

EKSTRAKSI SENYAWA POLIFENOL PADA KULIT JERUK *BABY JAVA* (*Citrus sinensis* L. *Osbeck*) MENGGUNAKAN METODE ULTRASONIK (KAJIAN KONSENTRASI ETANOL DAN LAMA EKSTRAKSI)

SKRIPSI

Oleh:

DHITA MAWADDATUR ROHMAH

NIM 145100501111016



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

EKSTRAKSI SENYAWA POLIFENOL PADA KULIT JERUK *BABY JAVA* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) MENGGUNAKAN METODE ULTRASONIK (KAJIAN KONSENTRASI ETANOL DAN LAMA EKSTRAKSI)

Oleh:

DHITA MAWADDATUR ROHMAH

NIM 145100501111016

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknologi Pangan



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2018

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Ekstraksi Senyawa Polifenol Pada Kulit Jeruk *Baby Java* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Menggunakan Metode Ultrasonik (Kajian Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi)

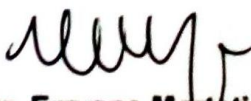
Nama Mahasiswa : Dhita Mawaddatur Rohmah

NIM : 145100501111016

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Teknologi Pertanian

Dosen Pembimbing,



Dr. Erryana Martati, STP, MP.

NIP. 19691126 199903 2 003

Tanggal Persetujuan:

LEMBAR PENGESAHAN

Judul : Ekstraksi Senyawa Polifenol Pada Kulit Jeruk *Baby Java* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Menggunakan Metode Ultrasonik (Kajian Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi)

Nama Mahasiswa : Dhita Mawaddatur Rohmah
NIM : 145100501111016
Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas : Teknologi Pertanian

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,


Dr. Widya Dwi Rukmi P., S.TP, MP.
NIP. 19700504 199903 2 002


Tunjung Mahatmanto, S.TP, M.Si, Ph.D
NIP. 19810908 200801 1 007

Dosen Penguji III,


Dr. Erryana Martati, STP, MP.
NIP. 19691126 199903 2 003



Ketua Jurusan,


Prof. Dr. Teti Estiasih, S.TP.,MP.
NIP. 19701226 200212 2 001

Tanggal Pengesahan:



RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Dhita Mawaddatur Rohmah, lahir di Kota Gresik Provinsi Jawa Timur pada tanggal 06 Januari 1996. Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara, putri dari pasangan Bapak Yatimin dan Ibu Musrifah. Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-kanak di TK PGRI Prupuh pada Tahun 2002. Kemudian melanjutkan pendidikan sekolah dasar di SDN Prupuh dan lulus pada tahun 2008. Setelah itu penulis melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 1 Sidayu dan lulus pada tahun 2011. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Sidayu dan lulus pada tahun 2014. Pada tahun 2014 juga, penulis diterima di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama melaksanakan pendidikan di perguruan tinggi, penulis aktif mengikuti organisasi. Pada tahun 2015-2016 penulis aktif sebagai staff muda dan staff Divisi Pendidikan dan Penalaran Himpunan Mahasiswa Teknologi Hasil Pertanian (HIMALOGISTA). Selain itu penulis juga aktif dalam berbagai kepanitiaan seperti Himalogista Anniversary 16, Orientasi Pengenalan Jurusan dan Himpunan THP 2015, Himalogista Great Event 10, Inspiration Class Himalogista 2015 dan 2016, serta Pemilihan Ketua Himpunan 2017 dan juga aktif mengikuti beberapa pelatihan dan seminar. Penulis juga aktif menjadi asisten praktikum yaitu praktikum Biokimia dan Analisis Pangan serta praktikum Teknologi Pengolahan Pangan pada tahun 2017, dan juga praktikum Penyuluhan dan Konsultasi Gizi Pangan pada tahun 2018.

Umbrella can't stop the rain, but make us stand in rain.
Confidence may not bring success, but gives power to face any challenge in life.
(Anonymous)



*It is You we worship and You we ask for help
(QS. Al Fatihah: 5)*

I present this little work to my beloved parents and brother who have never
been tired of always giving their prayers, hopes and sacrifices...

PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama Mahasiswa : Dhita Mawaddatur Rohmah
NIM : 145100501111016
Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas : Teknologi Pertanian
Judul Skripsi : Ekstraksi Senyawa Polifenol Pada Kulit Jeruk *Baby Java*
(*Citrus sinensis* L. Osbeck) Menggunakan Metode
Ultrasonik (Kajian Konsentrasi Etanol dan Lama
Ekstraksi)

Menyatakan bahwa,

Tugas akhir dengan judul diatas merupakan karya asli penulis. Apabila di kemudian hari terbukti pernyataan ini tidak benar saya bersedia dituntut sesuai hukum yang berlaku.

Malang, 10 Oktober 2018

Pembuat Pernyataan



Dhita Mawaddatur Rohmah

NIM. 145100501111016

Dhita Mawaddatur Rohmah. 145100501111016. Ekstraksi Senyawa Polifenol Pada Kulit Jeruk *Baby Java* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Menggunakan Metode Ultrasonik (Kajian Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi). Skripsi. Pembimbing: Dr. Erryana Martati, STP, MP.

RINGKASAN

Pengolahan jeruk *baby java* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) menjadi minuman jeruk peras meningkatkan terbentuknya limbah berupa kulit jeruk. Kulit jeruk secara umum mengandung senyawa bioaktif berupa senyawa fenolik dan antioksidan alami yang cukup tinggi sehingga dapat dimanfaatkan dengan melakukan ekstraksi. Metode ultrasonik dan kondisi ekstraksi seperti konsentrasi pelarut dan lama waktu dapat mempengaruhi karakteristik senyawa bioaktif yang terkandung pada bahan yang diekstrak. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi etanol dan lama ekstraksi dalam ekstraksi kulit jeruk *baby* dengan metode ultrasonik sehingga menghasilkan karakteristik senyawa bioaktif ekstrak kulit jeruk *baby java* terbaik.

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan 2 faktor. Faktor 1 adalah konsentrasi pelarut etanol yang terdiri dari 3 level (80%, 85% dan 90%) dan faktor 2 merupakan lama ekstraksi yang terdiri dari 3 level (10, 20 dan 30 menit). Dari kombinasi kedua faktor, diperoleh 9 perlakuan yang diulang sebanyak 3 kali sehingga didapatkan 27 satuan percobaan. Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisa menggunakan minitab 17 untuk menghitung *Analysis of Variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji lanjut *Tukey Simultaneous* dengan selang kepercayaan 95%. Pemilihan perlakuan terbaik dilakukan dengan metode *Multiple Attribute*.

Hasil dari penelitian menunjukkan terdapat interaksi antara kedua faktor perlakuan terhadap parameter total fenol, total flavonoid, dan nilai IC_{50} . Perlakuan konsentrasi etanol berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) pada parameter rendemen, total fenol, total flavonoid, kadar tanin dan nilai IC_{50} sedangkan perlakuan lama ekstraksi berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) pada parameter rendemen, total flavonoid, kadar tanin dan nilai IC_{50} . Perlakuan terbaik didapatkan pada perlakuan konsentrasi etanol 85% dan lama ekstraksi 30 menit dengan karakteristik rendemen $23,18 \pm 1,89$ %bb, total fenol $4,94 \pm 0,30$ mg GAE/g, total flavonoid $4,82 \pm 0,23$ mg QE/g, kadar tanin $25,54 \pm 1,22$ mg TAE/g, dan aktivitas antioksidan IC_{50} $357,70 \pm 7,20$ mg/l.

Kata Kunci: kulit jeruk, *baby java*, ekstraksi, *ultrasonic bath*

SUMMARY

Processing of baby java orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) generates orange peel containing bioactive compounds of phenolic compounds and natural antioxidants. Ultrasonic method and extraction condition, such as solvent concentration and extraction time can affect the characteristic of the extracted bioactive compounds. The purpose of this study was to study the ethanol concentration and extraction time on extraction of baby java orange peels using ultrasonic bath.

This study used Randomized Block Design (RAK) method with 2 factors. The first factor was the concentration of ethanol solvent with 3 levels (80%, 85% and 90%) and the second factor was the time of extraction with 3 levels (10, 20 and 30 minutes). From the combination of these two factors, 9 treatment combinations were obtained and each treatment was repeated 3 times. Data obtained were analyzed using Minitab 17 application to calculate the Analysis of Variance (ANOVA) and then followed by a further test with Tukey Simultaneous with 95% confidence interval. The selection of best treatment was obtained using Multiple Attribute method.

The result of this research showed that there is an interaction between both factors on the total phenol, total flavonoid, and IC_{50} value parameters. The treatment of ethanol concentration was significantly different ($\alpha=0,05$) on the yield, total phenol, total flavonoid, tannin value, and IC_{50} value parameters meanwhile the treatment of extraction time was significantly different ($\alpha=0,05$) on the yield, total flavonoid, tannin value, and IC_{50} value parameters. The best treatment was achieved with 85% ethanol and 30 minutes with the yield $23,18 \pm 1,89$ %wb, total phenol $4,94 \pm 0,30$ mg GAE/g, total flavonoid $4,82 \pm 0,23$ mg QE/g, tannin $25,54 \pm 1,22$ mg TAE/g, and IC_{50} $357,70 \pm 7,20$ mg/l.

Keywords: orange peel, baby java, extraction, ultrasonic bath

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, Segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul **“Ekstraksi Senyawa Polifenol Pada Kulit Jeruk *Baby Java* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Menggunakan Metode Ultrasonik (Kajian Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi)”** dengan baik. Penulis menyadari bahwa penyusunan tugas akhir ini tidak akan berjalan dengan baik dan lancar tanpa bantuan berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan beribu terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Erryana Martati, STP, MP selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan memberi penulis banyak saran dalam pengerjaan tugas akhir.
2. Ibu Prof. Dr. Teti Estiasih, STP., MP selaku ketua jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
3. Kedua orang tua, kakak dan seluruh keluarga penulis yang telah senantiasa memberikan doa, nasihat, motivasi dan dukungan tanpa henti.
4. Bu Luluk dan Pak Agus selaku laboran yang telah membantu penulis dalam penggunaan alat dan prosedur analisa saat pelaksanaan penelitian di laboratorium
5. Dinda dan Prasetyo sebagai teman satu kelompok skripsi kulit jeruk *baby java* yang selalu memberi semangat, motivasi, dan saling memberikan bantuan satu sama lain selama pengerjaan tugas akhir.
6. Oktiviani, Yunita, Astien, Jehan, Amrina, Medina, Alfisah dan Dela yang selalu mendengarkan keluh dan kesah penulis selama penelitian serta memberikan motivasi dan semangat untuk penulis menyelesaikan tugas akhir.
7. Teman-teman seperjuangan angkatan 2014, “PEJUANG THP 2014”, yang selalu saling membantu dan memberi semangat satu sama lain dari awal hingga akhir perkuliahan.
8. Sahabat-sahabat “Bunga Surga” (Ririn, Fifi, dan Putih) serta teman-teman IPA 1 & 2 Kader Malang yang selalu menularkan semangat dan kebahagiaannya serta memberikan dorongan secara langsung maupun tidak langsung.
9. Tria, Indrias, dan Ermatika yang selalu memberikan semangat untuk penulis

menyelesaikan tugas akhir, walaupun terpisah oleh jarak dan waktu.

10. Semua pihak yang telah membantu dalam penelitian dan penyusunan tugas akhir yang tidak bisa disebutkan satu-persatu .

Penulis sangat menyadari bahwa dalam penyusunan tugas akhir ini masih jauh dari kata sempurna, baik dari segi penyusunan, pembahasan ataupun penulisan. Oleh karena itu, penulis mengharap kritik dan saran yang bersifat membangun, yang dapat menjadi acuan dan pengalaman bagi penulis untuk menjadi lebih baik lagi di masa yang akan datang. Penulis berharap tugas akhir ini dapat memberikan manfaat bagi banyak pihak dan bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya bidang ilmu dan teknologi pangan.

Malang, 10 Oktober 2018

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Manfaat.....	3
1.5 Hipotesa	3
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 4
2.1 Jeruk <i>Baby Java</i>	4
2.2 Kulit Jeruk <i>Baby Java</i>	5
2.3 Senyawa Bioaktif Pada Kulit Jeruk.....	8
2.3.1 Komponen Fenolik	8
2.3.2 Flavonoid	9
2.3.3 Tanin.....	11
2.4 Antioksidan	13
2.4.1 Definisi	13
2.4.2 Klasifikasi.....	14
2.4.3 Mekanisme Kerja	15
2.5 Ekstraksi	17
2.6 Gelombang Ultrasonik	21

2.7 Metode Ekstraksi Ultrasonik	22
2.7.1 Definisi	22
2.7.2 Cara Kerja	22
2.7.3 <i>Ultrasonic Bath</i>	23
2.8 Etanol	24
BAB III METODE PENELITIAN	27
3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	27
3.2 Alat dan Bahan	27
3.2.1 Alat	27
3.2.2 Bahan	27
3.3 Metode Penelitian	27
3.4 Pelaksanaan Penelitian	29
3.4.1 Pembuatan Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby Java</i>	29
3.4.2 Proses Ekstraksi Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby Java</i>	29
3.5 Parameter Penelitian	30
3.6 Analisa Data	30
3.7 Diagram Alir Penelitian	31
3.7.1 Pembuatan Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby Java</i>	31
3.7.2 Proses Ekstraksi Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby Java</i>	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Karakteristik Bahan Baku	33
4.2 Rendemen Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i>	36
4.3 Total Fenol Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i>	39
4.4 Total Flavonoid Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i>	43
4.5 Kadar Tanin Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i>	46
4.6 Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀) Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i>	48
4.6.1 Korelasi Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀) dengan Flavonoid	52
4.7 Perlakuan Terbaik	53
BAB V PENUTUP	58
5.1 Kesimpulan	58
5.2 Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	72

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Perbandingan Aktivitas Antioksidan dan Total Fenolik Beberapa Ekstrak Jeruk	6
Tabel 2.2	Mekanisme Aktivitas Antioksidan	15
Tabel 2.3	Nilai Konstanta Dielektrik Beberapa Pelarut Organik	25
Tabel 3.1	Kombinasi Perlakuan Penelitian	28
Tabel 4.1	Perbandingan Karakteristik Bubuk Kulit Jeruk	33
Tabel 4.2	Rerata Nilai Rendemen Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> Metode Ultrasonik Akibat Perlakuan Konsentrasi Etanol.....	37
Tabel 4.3	Rerata Nilai Rendemen Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> Metode Ultrasonik Akibat Perlakuan Lama Ekstraksi	38
Tabel 4.4	Rerata Total Fenol Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi.....	41
Tabel 4.5	Rerata Total Flavonoid Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi.....	44
Tabel 4.6	Rerata Nilai Kadar Tanin Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> Metode Ultrasonik Akibat Perlakuan Konsentrasi Etanol.....	47
Tabel 4.7	Rerata Nilai Kadar Tanin Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> Metode Ultrasonik Akibat Perlakuan Lama Ekstraksi	48
Tabel 4.8	Rerata Nilai IC ₅₀ Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi.....	50
Tabel 4.9	Pemilihan Parameter Berdasarkan Faktor Kepentingan dan Pengharapan.....	54
Tabel 4.10	Karakteristik Fisik dan Senyawa Bioaktif Pada Konsentrasi Etanol 85% dan Lama Ekstraksi 30 Menit	54
Tabel 4.11	Luas Area Komponen Flavonoid dari Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> dengan Metode Ultrasonik Perlakuan Terbaik.....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Jeruk <i>Baby Java</i>	5
Gambar 2.2	Struktur Bagian Buah Jeruk	6
Gambar 2.3	Struktur Jenis-jenis Flavonoid.....	10
Gambar 2.4	Struktur Tanin yang ditemukan Pada Jaringan Tanaman dan Produk	12
Gambar 2.5	Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan.....	16
Gambar 2.6	Prinsip Kerja Antioksidan.....	17
Gambar 2.7	<i>Ultrasonic Bath</i>	24
Gambar 3.1	Diagram Alir Pembuatan Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby Java</i>	31
Gambar 3.2	Diagram Alir Proses Ekstraksi Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby Java</i>	32
Gambar 4.1	Grafik Rerata Nilai Rendemen Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi.....	36
Gambar 4.2	Grafik Rerata Total Fenol Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi	40
Gambar 4.3	Grafik Rerata Total Flavonoid Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi.....	43
Gambar 4.4	Grafik Rerata Kadar Tanin Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi	46
Gambar 4.5	Grafik Rerata Nilai IC_{50} Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi	49
Gambar 4.6	Grafik Korelasi Rerata Nilai IC_{50} dengan Rerata Nilai Total Flavonoid Ekstrak	52
Gambar 4.7	Kromatogram Hasil LC-MS Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> Metode Ultrasonik Perlakuan Terbaik	55
Gambar 4.8	Hasil Kromatogram pada senyawa: (a) Nobiletin, (b) Narirutin, (c) Hesperidin	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Prosedur Analisa	72
Lampiran 2.	Pemilihan Perlakuan Terbaik Metode <i>Multiple Attribute</i>	79
Lampiran 3.	Hasil Analisa dan ANOVA Parameter Rendemen	80
Lampiran 4.	Hasil Analisa dan ANOVA Parameter Total Fenol	82
Lampiran 5.	Hasil Analisa dan ANOVA Parameter Total Flavonoid	84
Lampiran 6.	Hasil Analisa dan ANOVA Parameter Kadar Tanin	86
Lampiran 7.	Hasil Analisa dan ANOVA Parameter Aktivitas Antioksidan IC ₅₀	88
Lampiran 8.	Hasil Perhitungan Pemilihan Perlakuan Terbaik Metode <i>Multiple Attribute</i>	90
Lampiran 9.	Hasil LC-MS Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby Java</i> Perlakuan Terbaik	92
Lampiran 10.	Dokumentasi Penelitian	94

I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jeruk manis Pacitan atau biasa dikenal dengan Jeruk *baby java* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) merupakan salah satu jenis buah jeruk lokal yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan. Jeruk *baby java* merupakan jenis jeruk manis yang banyak dibudidayakan di daerah Kabupaten Malang dimana yang menjadi sentra utama budidaya jeruk *baby java* ini adalah di Desa Selorejo, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang. Menurut Suyuti (2016), produktivitas jeruk *baby java* di Desa Selorejo mencapai 40-50 ton buah jeruk dalam 1 ha lahan atau sekitar 12.000 ton untuk luas lahan tanam ± 300 ha dengan produksi yang dilakukan secara kontinyu dan berbuah sepanjang musim.

Jeruk *baby java* memiliki rasa yang sangat manis dan kurang cocok jika dikonsumsi langsung karena struktur kulitnya yang sulit untuk dikupas sehingga lebih sering dikonsumsi sebagai minuman jeruk peras. Banyaknya produksi minuman jeruk peras membuat semakin banyak produk sampingan yang terbentuk salah satunya dalam bentuk kulit. Produk sampingan hasil produk olahan jeruk secara tradisional biasanya digunakan sebagai molase untuk pakan ternak, produksi serat (pektin), dan produksi bahan bakar (Lagha-Benamrouche and Madani, 2013), padahal kulit jeruk umumnya berpotensi sebagai sumber yang kaya akan flavonoid alami, mengandung komponen fitokimia dan fenolik yang tinggi, serta sebagai sumber antioksidan alami (Sawalha *et al.*, 2009; Barros *et al.*, 2012). Komponen fenolik pada kulit jeruk telah menarik perhatian karena kemampuannya sebagai antioksidan hingga efeknya bagi kesehatan seperti efek antiproliferatif, antiviral dan antidiabetes (Ghasemi *et al.*, 2009; Berim and Gang, 2015; M'hiri *et al.*, 2017), sehingga komponen pada kulit jeruk dapat dimanfaatkan bagi tubuh manusia dalam bentuk obat atau suplemen makanan (Arora and Kaur, 2013). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh M'hiri *et al.* (2015) menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk manis sebesar 0,014 g TEAC/100 g d.b dengan total flavonoid 2,685 g/100g d.b. Selain itu penelitian yang dilakukan Rasfanjani (2014) pada kulit jeruk bali menghasilkan aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit jeruk bali tertinggi mencapai angka 91,24% pada konsentrasi etanol 96% dan lama ekstraksi 30 menit.

Salah satu proses yang dapat dilakukan untuk memanfaatkan komponen bioaktif pada kulit jeruk *baby java* adalah dengan menggunakan proses ekstraksi.

Seiring waktu, maka dilakukan inovasi teknologi pada proses ekstraksi yang bertujuan untuk memperoleh *yield* yang tinggi dengan lama waktu yang digunakan relatif singkat. Salah satu jenis ekstraksi dengan keunggulan tersebut adalah ekstraksi ultrasonik. Ekstraksi ultrasonik memanfaatkan efek gelombang ultrasonik untuk mempengaruhi perubahan-perubahan yang terjadi pada proses. Keuntungan utama dari ekstraksi ultrasonik dibandingkan dengan ekstraksi konvensional adalah efisiensi yang lebih besar dan waktu operasinya yang lebih singkat. Selain itu ekstraksi ultrasonik akan memberikan laju perpindahan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi secara konvensional (Garcia and Castro, 2004).

Dalam proses ekstraksi, faktor penting yang perlu diperhatikan adalah pelarut dan waktu yang digunakan. Salah satu jenis pelarut yang aman dan efisien untuk digunakan adalah pelarut etanol karena etanol dikategorikan sebagai pelarut GRAS (*Generally Recognized as Safe*) (Safdar *et al.*, 2016). Selain jenis pelarut, konsentrasi pelarut etanol yang digunakan juga dapat berpengaruh terhadap hasil ekstrak karena pencampuran antara air dan etanol akan memberikan perbedaan polaritas pada pelarut sehingga dapat mempengaruhi hasil akhir ekstrak. Selain itu, semakin lama proses ekstraksi maka kesempatan kontak antara pelarut dengan zat yang ingin diekstrak akan semakin besar sehingga hasil yang didapatkan juga akan semakin bertambah hingga titik jenuh larutan.

Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian untuk mempelajari karakteristik senyawa bioaktif ekstrak dari kulit jeruk *baby java* yang diekstrak menggunakan metode ultrasonik dengan *ultrasonic bath*, ditinjau dari pengaruh konsentrasi pelarut etanol dan lama ekstraksi dimana dalam penelitian ini digunakan pelarut etanol 80%, 85%, dan 90% dengan lama waktu ekstraksi 10, 20, dan 30 menit.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah konsentrasi etanol dan lama ekstraksi dapat memberikan pengaruh terhadap komponen bioaktif dan aktifitas antioksidan ekstrak kulit jeruk *baby java* yang diekstrak dengan metode ultrasonik?
2. Apakah terdapat interaksi antara konsentrasi etanol dengan lama ekstraksi terhadap komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk *baby java* yang diekstrak dengan metode ultrasonik?

1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi etanol dan lama ekstraksi terhadap komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk *baby java* yang diekstrak dengan metode ultrasonik
2. Untuk mengetahui adakah interaksi antara konsentrasi etanol dengan lama ekstraksi terhadap komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk *baby java* yang diekstrak dengan metode ultrasonik

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai karakteristik komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan dari limbah kulit jeruk *baby java* sehingga dapat dikembangkan lebih lanjut nantinya menjadi suatu produk atau pengaplikasian ekstrak kulit jeruk *baby java* ke dalam suatu produk seperti biskuit dan pembuatan suplemen makanan serta informasi mengenai proses ekstraksi dari kulit jeruk *baby java* yang lebih efektif dan efisien untuk diaplikasikan yaitu ekstraksi ultrasonik.

1.5 Hipotesa

- Diduga perbedaan konsentrasi etanol dan lama ekstraksi menggunakan metode ultrasonik berpengaruh nyata terhadap karakteristik komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk *baby java*.
- Diduga terdapat interaksi antara konsentrasi etanol dan lama ekstraksi menggunakan metode ultrasonik terhadap komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk *baby java*.

II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jeruk *Baby Java*

Jeruk (*Citrus sp.*) adalah tanaman buah tahunan yang berasal dari Asia. Sejak ratusan tahun yang lalu, jeruk sudah tumbuh di Indonesia baik secara alami atau dibudidayakan. Jenis jeruk lokal yang dibudidayakan di Indonesia adalah jeruk keprok (*Citrus reticulata/nobilis L.*), jeruk siam (*C. microcarpa L.* dan *C. sinensis L.*) yang terdiri atas Siam Pontianak, Siam Garut, Siam Lumajang, serta jeruk besar (*C. maxima Herr.*) yang terdiri atas jeruk Nambangan-Madium dan Bali (Kementerian Pertanian RI, 2016). Jeruk mempunyai permukaan buah yang halus, bentuknya bulat sampai bulat pendek, dan bobot rata-rata per buah 55-86%. Buah jeruk terdiri dari kulit luar (flavedo), kulit dalam (albedo), segmen buah (endocarp), yang terdiri dari gelembung-gelembung kecil berisi cairan dan terbungkus oleh segmen (endocarp), berwarna orange, lunak, teksturnya halus, banyak mengandung air dan rasanya manis sampai agak asam segar. Dalam satu buah jumlah segmen buah berkisar antara 8-15 tergantung pada varietas (Cahyono, 2005 dalam Aziz, 2010).

Jeruk manis pacitan atau yang memiliki nama lain jeruk *baby java* (*Citrus sinensis L. Osbeck*) merupakan salah satu jenis jeruk manis lokal yang sedang dikembangkan di wilayah Indonesia karena mampu beradaptasi dengan baik di berbagai daerah. Jeruk *baby java* memiliki rasa yang sangat manis sehingga sering dimanfaatkan untuk produk minuman jeruk peras. Buah jeruk *baby java* memiliki bentuk bulat dengan bagian atas hampir meruncing dan bagian bawah mendatar. Jeruk *baby java* memiliki kulit yang lebih tebal dibandingkan dengan jeruk siam, daging buah berwarna kuning atau merah oranye, dan memiliki rasa yang manis. Kandungan air dalam dagingnya cukup tinggi dan daging buahnya sangat rapat satu sama lain (Suryaningtyas, 2014). Jeruk *baby java* mengandung senyawa fitokimia seperti limonoid, hesperidin, polifenol, pektin, dan sebagainya. Senyawa tersebut dapat mencegah arteriosclerosis, kanker, batu ginjal, dan mengurangi kadar kolesterol serta darah tinggi (Etebu and Nwauzoma, 2014). Kenampakan buah jeruk jenis *baby java* dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Jeruk *Baby Java* (Balitjestro, 2012)

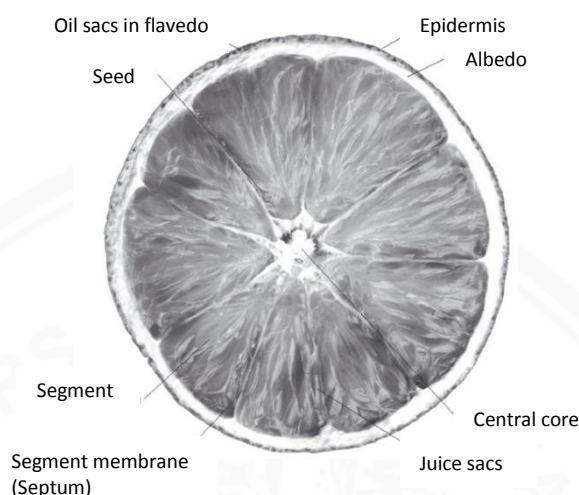
Jeruk *baby java* paling cocok ditanam di daerah subtropika yang memiliki suhu rata-rata 20-25^DC. Jeruk ini mulai berbuah setelah berumur 3-5 tahun (Siburian, 2008). Salah satu budidaya jeruk *baby java* berada di Kabupaten Malang tepatnya di Desa Selorejo, Kecamatan Dau yang terletak di ketinggian 800-1000 mdpl (Balitjestro, 2015). Produktivitas jeruk *baby java* di Desa Selorejo mencapai 40-50 ton buah jeruk dalam 1 ha lahan atau sekitar 12.000 ton untuk luas lahan tanam ± 300 ha dengan produksi yang dilakukan secara kontinyu dan berbuah sepanjang musim. Desa Selorejo ini mampu menghasilkan 17.500 ton buah jeruk manis dari sekitar 800 ha luas lahan kebun jeruk secara keseluruhan tiap musim panen dimana yang utamanya merupakan jenis jeruk *baby java* (Suyuti, 2016).

2.2 Kulit Jeruk *Baby Java*

Bagian dari buah jeruk secara umum dari luar sampai ke dalam adalah kulit, segmen-segmen, dan *core*. Segmen-segmen pada buah jeruk terdiri dari dinding segmen, rongga cairan dan biji. Daging buah atau *core* merupakan bagian tengah yang terdiri dari ikatan pembuluh dan jaringan parenkim (Simanjuntak, 2015).

Kulit jeruk sendiri secara umum tersusun atas epidermis, flavedo, kelenjar minyak, albedo dan ikatan pembuluh. Bagian kulit luar atau epidermis memiliki struktur kasar dan terdapat lapisan seperti lilin. Flavedo merupakan bagian lapisan subepidermal yang mengandung warna atau pigmen dan kelenjar minyak yang memproduksi minyak aromatis atau minyak atsiri. Warna dari flavedo biasanya adalah hijau, kuning, atau oranye dimana pigmen warna tersebut berupa klorofil dan karotenoid. Albedo merupakan bagian kulit jeruk yang terdapat dibawah flavedo. Albedo berbentuk seperti lapisan spon yang berwarna

putih dan tebal serta merupakan sumber dari flavanon (Liu *et al.*, 2012). Albedo tersusun atas sel-sel parenkim yang kaya akan pektin dan hemiselulosa (Kurniawan dkk., 2008). Jumlah kulit jeruk dibandingkan dengan total keseluruhan buah jeruk berkisar 40% dari total buah jeruk (M'hiri *et.al.*, 2015). Struktur bagian dari buah jeruk secara umum dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Bagian Buah Jeruk (Liu *et al.*, 2012)

Kulit jeruk manis secara umum mengandung komponen fitokimia seperti total fenolik dan aktivitas antioksidan (dalam IC_{50}) yang cukup tinggi jika dibandingkan dengan beberapa komoditas lain sejenis citrus seperti lemon, jeruk mandarin, *red grapefruit*, dan *white grapefruit* baik yang berupa kulit ataupun jus (Fejzić and Cavar, 2014). Perbandingan aktivitas antioksidan dan total fenolik pada kulit dan jus berbagai spesies *Citrus* dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Perbandingan Aktivitas Antioksidan dan Total Fenolik Beberapa Ekstrak Jeruk

Sampel	Aktivitas Antioksidan (IC_{50} [mg/ml])	Total Fenolik mg GA/ml
Kulit lemon	$20,30 \pm 1,98$	$0,480 \pm 0,007$
Jus lemon	$78,11 \pm 6,70$	$0,322 \pm 0,002$
Kulit jeruk manis	$19,15 \pm 0,24$	$0,452 \pm 0,027$
Jus jeruk manis	$6,00 \pm 0,50$	$0,437 \pm 0,002$
Kulit jeruk mandarin	$9,13 \pm 0,28$	$0,334 \pm 0,014$
Jus jeruk mandarin	$36,82 \pm 1,82$	$0,357 \pm 0,033$
Kulit <i>red grapefruit</i>	$24,52 \pm 1,33$	$0,283 \pm 0,018$
Jus <i>red grapefruit</i>	$33,55 \pm 0,60$	$0,359 \pm 0,029$
Kulit <i>white grapefruit</i>	$30,93 \pm 0,86$	$0,192 \pm 0,015$
Jus <i>white grapefruit</i>	$39,46 \pm 0,57$	$0,747 \pm 0,098$

Sumber: Fejzić and Cavar (2014)

Kulit dan biji jeruk kaya akan komponen fenolik seperti asam fenolik dan flavonoid namun kandungan flavonoid kulit jeruk lebih banyak dibandingkan bijinya (El-aal and Halaweish, 2010). Kandungan senyawa dalam kulit buah jeruk antara lain flavon glikosida, triterpen, pigmen, flavon polimetoksilat dan flavonoid (Milind and Dev, 2012). Senyawa fenolik utama pada kulit jeruk manis secara umum terdiri dari asam fenolik seperti asam sinapat, asam ferulat, asam kumarat dan asama kafeat (Zefang *et al.*, 2016) dan *glycosylated flavanones* (narirutin dan hesperidin), flavon dan *polymethoxylated flavones* (diosmin, luteoin dan sinensetin) serta flavonol (rutin, quercetin, kaempferol) (Anagnostopoulou *et al.*, 2005; Tokusgulu and Hall, 2011 dalam Ghahroudi *et al.*, 2017). Senyawa fenolik berupa asam fenolik dan *glycosylated flavanones* memiliki sifat lebih polar dibandingkan dengan senyawa fenolik jenis lainnya pada kulit jeruk manis (Ghahroudi *et al.*, 2017). Selain komponen bioaktif, kulit jeruk manis juga mengandung komponen lain seperti abu, lemak, protein, serat kasar, karbohidrat dan air (Gotmare and Gade., 2018; Oikeh *et al.*, 2013; Ezekiel *et al.*, 2014).

Kulit jeruk pada umumnya mengandung minyak atsiri yang cukup tinggi dan dapat diekstrak sehingga memiliki nilai jual yang tinggi (Hidayat, 2012). Kulit jeruk mengandung atsiri yang terdiri dari berbagai komponen seperti tepen, sesquiten, aldehida, ester dan sterol (Friatna dkk., 2011). Kandungan minyak atsiri paling tinggi yang dapat diekstrak dari kulit jeruk pada umumnya yaitu dengan rendemen sebesar 0,8% (Hayu dkk., 2013). Kulit jeruk dapat dikatakan sebagai limbah dari buah jeruk namun kulit jeruk tersebut dapat digunakan sebagai sumber antioksidan polifenol. Hal tersebut dikarenakan kandungan fenol dan flavonoid yang cukup tinggi yang ditemukan pada kulit jeruk. Aktivitas antioksidan dari kulit jeruk mencapai 71,4%, tidak jauh berbeda dengan kulit lemon yang memiliki aktivitas antioksidan sebesar 75.9% (Singh and Immanuel, 2014).

Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk *baby java* mempunyai aktivitas meredam radikal bebas DPPH. Ekstrak kulit jeruk baby java tersebut diekstrak dengan metode soxhletasi menggunakan pelarut petroleum eter dan metanol (Martha, 2001). Kulit jeruk dapat digunakan sebagai makanan fungsional, formulasi produk farmasi sebagai komposisi untuk antidiare dan obat detoksifikasi (Liu *et al.*, 2003; Piriyaprasarth and Sriamornsak, 2011), serta dapat digunakan sebagai suplemen makanan untuk manusia atau pakan hewan (Bampidis and Robinson, 2006; M'hiri *et al.*, 2017).

2.3 Senyawa Bioaktif Pada Kulit Jeruk

2.3.1 Komponen Fenolik

Komponen Fenolik termasuk fenol sederhana, asam fenolik (turunan asam benzoat dan asam sinamat), kumarin, flavonoid, stilbena, tanin terhidrolisis dan terkondensasi, lignan serta lignin merupakan metabolit sekunder yang paling banyak pada tumbuhan (Blainski *et.al.*, 2013). Fenol (C_6H_5OH) merupakan senyawa organik yang mempunyai gugus hidroksil yang terikat pada cincin benzena. Senyawa fenol memiliki beberapa nama lain seperti asam karbolik, fenat monohidroksibenzena, asam fenat, asam fenilat, fenil hidroksida, oksibenzena, benzenol, monofenol, fenil hidrat, fenilat alkohol, dan fenol alkohol (Nair *et al.*, 2008). Fenol memiliki titik leleh rendah ($41^\circ C$), mengkristal dalam prisma yang tidak berwarna dan memiliki bau khas yang sedikit menyengat. Fenol mudah larut di sebagian besar pelarut organik (hidrokarbon aromatik, alkohol, keton, eter, asam, hidrokarbon terhalogenasi) dan agak kurang larut dalam hidrokarbon alifatik. Fenol membentuk campuran azeotropik dengan air dan zat lainnya (Nguyen *et al.*, 2003). Senyawa fenol dapat mengalami oksidasi sehingga dapat berperan sebagai reduktor. Fenol bersifat lebih asam bila dibandingkan dengan alkohol, tetapi lebih basa daripada asam karbonat karena fenol dapat melepaskan ion H^+ dari gugus hidroksilnya. Lepasnya ion H^+ menjadikan anion fenoksida $C_6H_5O^-$ dapat melarut dalam air (Permata, 2015). Fenol memiliki kelarutan terbatas dalam air yakni sekitar 8,3 gram/100 ml (Hamamah dan Trihadiningrum, 2008).

Standar yang digunakan pada analisis kandungan fenolik adalah asam galat, hal ini karena asam galat bersifat stabil, memiliki sensitivitas yang tinggi, dan harganya cukup terjangkau. Kandungan fenolik dari standar asam galat ditentukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Chang and Xu, 2007). Metode analisa komponen fenolik dengan Folin-Ciocalteu berdasarkan pada reaksi kolorimetri yang mengukur konsentrasi total gugus hidroksil fenolik dalam ekstrak tumbuhan. Polifenol pada ekstrak tumbuhan akan bereaksi dengan reagen redoks yaitu Folin-Ciocalteu membentuk kompleks berwarna biru yang dapat dikuantifikasikan dengan spektrofotometer UV-Vis. Reaksi tersebut membentuk kromofor biru yang dibentuk oleh kompleks *phosphotungstic-phosphomolybdenum* dimana penyerapan maksimum dari kromofor bergantung pada larutan alkali dan konsentrasi komponen fenolik (Schofield *et.al.*, 2001). Metode penentuan tingkat total fenolik dengan reagen

folin-ciocalteau tidak berdasarkan pengukuran absolut dari jumlah senyawa fenolik namun sebenarnya didasarkan pada kapasitas pengurangan kimianya relatif terhadap asam galat (Hossain and Shah, 2011).

Komponen fenolik merupakan metabolit sekunder yang disintesis oleh tanaman dan terdapat pada jaringan vakuola. Pada umumnya komponen fenolik terlibat dalam pertahanan tumbuhan melawan radiasi ultraviolet atau serangan patogen (Manach *et al.*, 2004). Komponen fenolik dari kulit jeruk telah digunakan untuk formulasi produk kesehatan seperti sebagai bahan aditif alami, pemanis (hesperidein dan neohesperidin), pewarna (antosianin) dan dalam beberapa minuman untuk tipe rasa sepat (naringin) (M'hiri *et al.*, 2016).

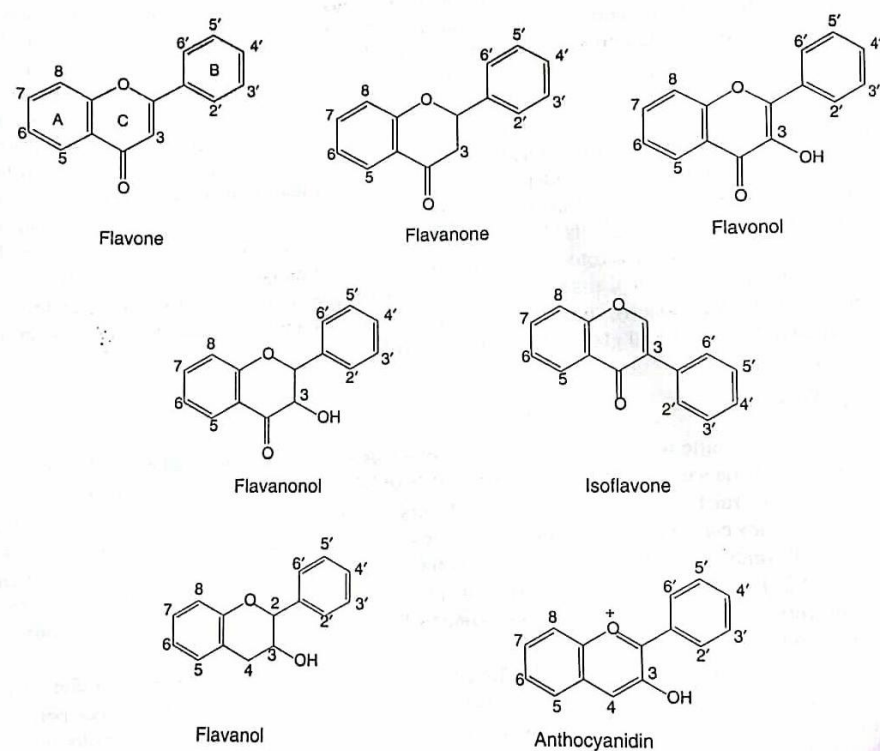
Kulit jeruk merupakan sumber yang menarik dari komponen fenolik dan ditemukan mempunyai potensi kemampuan antioksidatif yang baik terhadap radikal. Kulit jeruk pada umumnya mengandung fenol yang bervariasi dari 0,67 hingga 7,30 g/100 g berat kering (Chen *et al.*, 2012; Sankalpa *et al.*, 2017; M'hiri *et al.*, 2014). Pada kulit jeruk bali berdasarkan penelitian mengandung total fenol 667,08 µg/g (Rasfanjani, 2014).

2.3.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan dalam suatu jaringan tanaman. Flavonoid termasuk golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia $C_6-C_3-C_6$ yang memiliki kerangka satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen. Flavonoid merupakan salah satu senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antioksidan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010).

Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksilnya. Perbedaan di bagian rantai karbon nomor 3 menentukan klasifikasi dari senyawa flavonoid yaitu flavon, flavonol, flavanon, flavanonol, isoflavon, auron dan khalkon. Salah satu kelompok senyawa flavonoid adalah quersetin yang memiliki lima gugus hidroksil yang mampu meredam radikal bebas DPPH (Subandono, 2006; Rahayu dan Hastuti, 2009). Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau dengan

mengecualikan alga. Flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah, dan biji. Penyebaran jenis flavonoid pada golongan tumbuhan yang terbesar, yaitu angiospermae (Subandono, 2006). Flavonoid merupakan komponen fenol utama pada *Citrus* yang sensitif terhadap suhu, cahaya, dan waktu paparan (Manach *et al.*, 2004). Flavonoid secara umum terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida dan sedikit sebagai aglikon (bentuk tanpa bagian gula). Paling tidak 8 monosakarida atau kombinasinya (di- atau trisakarida) dapat berikatan pada grup hidroksil yang berbeda dari flavonoid aglikon (M'hiri *et al.*, 2016). Struktur beberapa jenis-jenis flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur Jenis-jenis Flavonoid (Fennema, 2008)

Flavanon, flavon, flavonol dan antosianin merupakan tipe-tipe flavonoid yang terkandung pada buah jeruk. Pada kulit jeruk yang paling tinggi adalah tipe flavanon dan empat komponen yang paling berlimpah yaitu naringenin, hesperetin, eriodictyol serta isosakuranetin (M'hiri, 2016). Kandungan flavonoid pada kulit jeruk manis diduga memiliki aktivitas antidiabetes. Aksi flavonoid sebagai antidiabetes diduga dengan meregenerasi kerusakan sel beta pankreas dan merangsang sel beta pankreas untuk memproduksi insulin (Ghasemi *et al.*,

2009; Dheer and Bhatnagar, 2010; Kawatu dkk., 2013). Salah satu senyawa yang terkandung dalam kulit jeruk manis adalah hesperidin yang merupakan turunan dari flavonoid yaitu flavanon. Hesperidin merupakan senyawa tidak pahit dan memiliki kelarutan yang tinggi sehingga mudah untuk diisolasi (Handayani dkk., 2005).

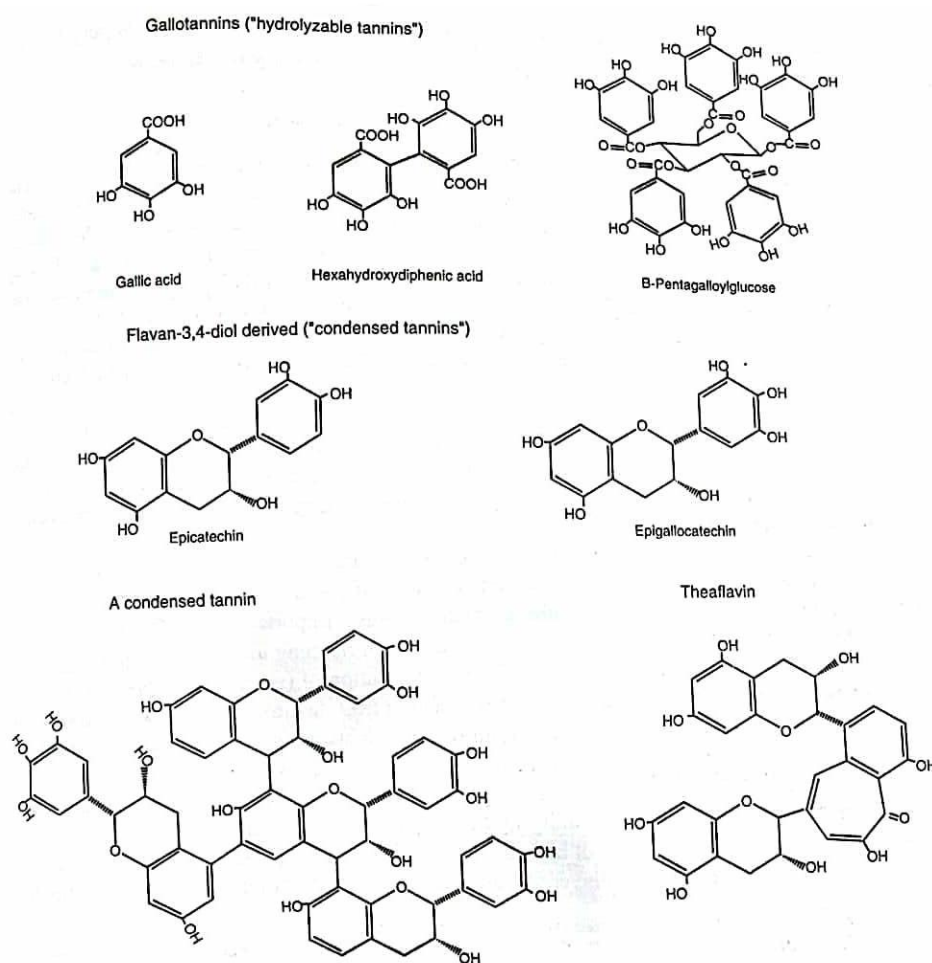
Flavonoid pada kulit jeruk, berdasarkan identifikasi menggunakan HPLC-DAD-MS, terbagi atas dua jenis yaitu *glycosylated flavanones* serta *polymethoxylated flavones*. Flavonoid yang termasuk dalam jenis *glycosylated flavanones* pada kulit jeruk yaitu neohesperidin, hesperidin, eriocitrin, narirutin, didymin, dan naringin sedangkan flavonoid yang termasuk dalam *polymethoxylated flavones* pada kulit jeruk adalah hexamethoxyflavone, tangeretin, nobiletin, dan sinensetin (M'hiri *et al.*, 2017). Ekstrak kulit jeruk *baby java* mengandung senyawa flavonoid golongan flavanon atau dihidroflavonol tanpa gugus OH pada posisi 5 dan 7, tanpa ortodi OH pada cincin A, tanpa ada gugus yang peka terhadap basa, dan memiliki aktivitas meredam radikal bebas DPPH (Martha, 2001).

2.3.3 Tanin

Tanin adalah senyawa fenolik kompleks yang memiliki berat molekul cukup besar yaitu 500-3000 Da, yang terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus yang bersangkutan seperti karboksil untuk membentuk kompleks kuat yang efektif dengan protein dan beberapa makromolekul (Ashari, 2013). Sifat utama tanin tumbuh-tumbuhan tergantung pada gugusan fenolik berupa -OH yang terkandung dalam tanin. Secara kimia tanin memiliki gugus fenol yang bersifat koloid, dapat larut dalam air, metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Kelarutan tanin akan semakin besar apabila dilarutkan dalam air panas. Selain itu tanin juga dapat terhidrolisis oleh asam, basa, dan enzim (Ashari, 2013).

Tanin dibagi menjadi dua kelompok atas dasar tipe struktur dan aktivitasnya terhadap senyawa hidrolitik terutama asam, tanin terkondensasi (*condensed tannin*) dan tanin yang dapat dihidrolisis (*hydrolyzable tannin*) (Pambayun dkk., 2007). Struktur molekul *hydrolyzable tannin* di tengah-tengahnya memiliki gugus karbohidrat (biasanya D-glukosa), merupakan hidroksil dari karbohidrat atau *phenolic esterified* seperti asam gallat (dalam *gallotannins*) atau asam ellagat (dalam *ellagitannins*). *Hydrolyzable tannin* yang dihidrolisis

oleh asam lemah atau basa lemah menghasilkan karbohidrat dan asam phenolik. *Condensed tannin* dikenal sebagai *proanthocyanidins* yaitu polimer yang terdiri dari 2-50 (atau lebih) unit flavonoid yang bergabung dengan ikatan karbon-karbon, yang tidak rentan terhadap hidrolisis (Ismarani, 2012). Pada beberapa jaringan tanaman dan produk biasanya ditemukan beberapa jenis tanin yang memiliki struktur yang berbeda-beda. Struktur dari tanin yang ditemukan pada beberapa jaringan tanaman dan produk dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur Tanin yang ditemukan Pada Jaringan Tanaman dan Produk (Fennema, 2008)

Senyawa tanin adalah senyawa *astringent* yang memiliki rasa pahit dari gugus polifenolnya yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein. Zat *astringent* dari tanin menyebabkan rasa kering dan *puckery* (kerutan) di dalam mulut setelah mengkonsumsi teh pekat, anggur merah atau buah yang mentah. Dekstruksi atau modifikasi tannin selama ini berperan penting dalam

pengawet kayu, adsorben logam berat, obat-obatan, antimikroba, dan lain-lain (Ismarani, 2012). Senyawa tanin terkandung hampir ada semua bagian dari genus *Citrus*, mulai dari daun, akar, batang, kulit batang hingga kulit jeruk (Ezeabara *et al.*, 2014). Pada kulit jeruk, umumnya memiliki kadar tanin yang cukup tinggi ditandai dengan rasa kulit jeruk yang sepat dan pahit apabila termakan. Sebagai contoh yaitu kadar tanin dari kulit jeruk bali yang mencapai angka 15767,00 mg/100 gram (Rasfanjani, 2014). Pada penelitian yang dilakukan oleh Ezeabara *et al.* (2014) juga menunjukkan kadar tanin hasil observasi yang tinggi pada kulit *Citrus sinensis* yaitu sebesar 0,9%.

2.4 Antioksidan

2.4.1 Definisi

Antioksidan dalam definisi secara kimia adalah senyawa pemberi elektron (elektron donor). Secara biologis, definisi antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat (Winarti, 2010).

Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi. Efek antioksidan senyawa fenolik dikarenakan sifat oksidasi yang berperan dalam menetralisasi radikal bebas (Sayuti dan Yenrina, 2015). Beberapa senyawa fitokimia yang dapat berfungsi sebagai antioksidan seperti karotenoid, polifenol, inhibitor protease, fitoesterogen, sulfida, asam fitat, dan sebagainya (Astawan dan Kasih, 2008). Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih. Oleh karena itu apabila terbentuk banyak radikal pada tubuh maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Antioksidan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan serta kesehatan dan kecantikan. Pada bidang kesehatan dan kecantikan, antioksidan

berfungsi untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan sebagainya. Di bidang industri pangan, antioksidan dapat digunakan untuk mencegah terjadinya proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan, seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lain (Tamat dkk., 2007). Antioksidan sangat penting sebagai inhibitor peroksidasi lipid sehingga bisa digunakan untuk mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada bahan pangan. Peroksidasi lipid merupakan reaksi kimia yang sering terjadi pada bahan pangan yang memproduksi asam, aroma tak sedap dan toksik selama proses pengolahan dan penyimpanan sehingga mempengaruhi mutu dan keamanan produk pangan (Sayuti dan Yenrina, 2015).

2.4.2 Klasifikasi

Berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya, jenis antioksidan dibagi menjadi antioksidan primer, sekunder dan tersier (Sayuti dan Yenrina, 2015):

a. Antioksidan Primer

Antioksidan primer adalah antioksidan yang sifatnya sebagai pemutus reaksi berantai (*chain-breaking antioxidant*) yang bisa bereaksi dengan radikal-radikal lipid dan pengubahnya menjadi produk-produk yang lebih stabil. Antioksidan primer bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa radikal baru, yaitu mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum senyawa radikal bebas bereaksi. Antioksidan primer mengikuti mekanisme pemutusan rantai reaksi radikal dengan mendonorkan atom hidrogen secara cepat pada suatu lipid yang radikal, produk yang dihasilkan lebih stabil dari produk awal. Suatu molekul dapat beraksi sebagai antioksidan primer jika dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal lipid dan radikal yang berasal dari antioksidan ini lebih stabil daripada radikal lipidnya, atau diubah menjadi produk-produk lain yang stabil. Contoh antioksidan primer adalah Superoksida Dismutase (SOD), Glutathion Peroksidase (GPx), katalase dan protein pengikat logam.

b. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder bekerja dengan cara mengkelat logam yang bertindak sebagai pro-oksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan sekunder berperan sebagai pengikat ion-ion logam, penangkap oksigen, pengurai hidroperoksida menjadi senyawa non radikal, penyerap radiasi UV atau deaktivasi singlet oksigen. Lipida pangan umumnya

mengandung ion-ion logam dalam jumlah sangat kecil yang mungkin berasal dari enzim-enzim yang diaktifkan oleh logam, berasal dari peralatan pemurnian minyak atau berasal dari proses hidrogenasi. Logam-logam berat khususnya yang bervalensi dua atau lebih dengan potensial redoks yang sesuai, seperti Co, Cu, Fe, Mn dan sebagainya, mempersingkat periode induksi dan meningkatkan kecepatan maksimum dari oksida lipida. Senyawa pengkelat logam yang membentuk ikatan-ikatan σ dengan logam sifatnya efektif sebagai antioksidan sekunder karena hanya senyawa ini menurunkan potensil redoks dan karenanya menstabilkan bentuk teroksidasi dari ion-ion logam. Contoh dari antioksidan sekunder adalah asam sitrat, EDTA dan turunan asam fosfat.

c. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier bekerja memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan radikal bebas. Contoh antioksidan tersier adalah enzim-enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfida reduktase.

2.4.3 Mekanisme Kerja

Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh banyak faktor seperti kandungan lipid, konsentrasi antioksidan, suhu, tekanan oksigen, dan komponen kimia dari makanan secara umum seperti protein dan air. Proses penghambatan antioksidan berbeda-beda tergantung dari struktur kimia dan variasi mekanisme. Dalam mekanisme ini yang paling penting adalah reaksi dengan radikal bebas lipid, yang membentuk produk non-aktif (Gordon *et al.*, 2001 dalam Sayuti dan Yenrina, 2015). Beberapa mekanisme aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Mekanisme Aktivitas Antioksidan

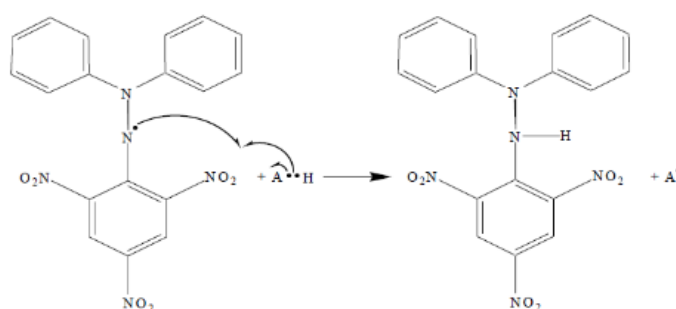
Jenis Antioksidan	Mekanisme Aktivitas Antioksidan	Contoh Antioksidan
Hidroperoxide Stabilizer	- Menonaktifkan radikal bebas lipid - Mencegah penguraian hidroperoksida menjadi radikal bebas	Senyawa fenol
Sinergis	- Meningkatkan aktivitas antioksidan	Asam sitrat & Asam askorbat
Chelators Logam	- Mengikat logam berat menjadi senyawa non aktif	Asam fosfat & Asam sitrat
Unsur Mengurangi Hidroperoksida	- Mengurangi hidroperoksida	Protein, asam amino

Sumber: Gordon *et al.* (2001) dalam Sayuti dan Yenrina (2015)

Antioksidan tubuh mempunyai mekanisme tertentu dalam aktivitasnya. Antioksidan dapat menghentikan proses kerusakan sel dengan cara memberikan elektron kepada radikal bebas. Antioksidan akan menetralkan radikal bebas sehingga tidak mempunyai kemampuan lagi mencuri elektron dari sel dan DNA. Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi, dapat disebabkan oleh 4 (empat) macam mekanisme reaksi yaitu (Sayuti dan Yenrina, 2015):

- Pelepasan hidrogen dari antioksidan
- Pelepasan elektron dari antioksidan
- Adisi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan
- Pembentuk senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan

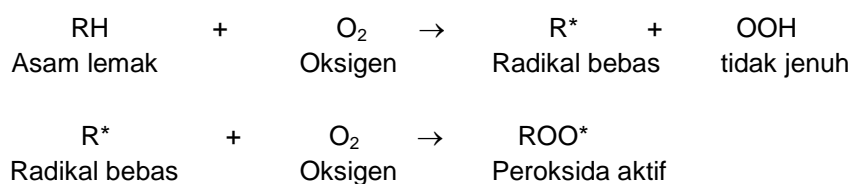
Gambaran umum reaksi DPPH dengan antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan
(Sayuti dan Yenrina, 2015)

Prinsip kerja dari antioksidan dalam menghambat autooksidasi pada lemak adalah oksigen bebas di udara akan mengoksidasi ikatan rangkap pada asam lemak yang tidak jenuh. Kemudian radikal bebas yang terbentuk akan beraksi dengan oksigen sehingga akan menghasilkan peroksida aktif. Apabila dalam suatu asam lemak yang terdapat dalam minyak tidak mengandung antioksidan, maka peroksida aktif akan bereaksi dengan ikatan rangkap lemak. Apabila ditambah suatu antioksidan, maka peroksida aktif akan bereaksi dengan antioksidan tersebut. Sehingga pembentukan radikal bebas dapat dihentikan

dengan penambahan suatu antioksidan (Sayuti dan Yenrina, 2015). Gambaran prinsip kerja antioksidan terhadap radikal bebas dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Prinsip Kerja Antioksidan (Sayuti dan Yenrina, 2015)

Mekanisme kerja antioksidan primer adalah dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi) atau dikenal dengan istilah juga *chain-breaking-antioxidant*. Mekanisme kerja antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*). Akibatnya radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan sekunder ini bekerja dengan satu atau lebih mekanisme berikut (Winarsi, 2007):

- Memberikan suasana asam pada medium (sistem makanan)
- Meregenerasi antioksidan utama
- Mengkelat atau mendeaktifkan kontaminan logam prooksidan
- Menangkap oksigen
- Mengikat singlet oksigen dan mengubahnya ke bentuk triplet oksigen

Pada antioksidan tersier enzim-enzim tersebut berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat aktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA akibat radikal bebas dapat dicirikan oleh rusaknya *single* atau *double strand* pada gugus basa dan non-basa (Winarsi, 2007).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan suatu senyawa metabolit sekunder menggunakan pelarut. Ekstraksi akan lebih cepat dilakukan dengan penggunaan suhu tinggi namun hal tersebut dapat mengakibatkan beberapa komponen mengalami kerusakan (Kholifah, 2014). Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai

simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Nasution, 2010). Prinsip dasar ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non-polar dalam pelarut non-polar. Serbuk simplisia diekstraksi berturut-turut dengan pelarut yang berbeda polaritasnya (Pradipta, 2011). Tahapan ekstraksi melewati dua mekanisme dasar yakni disolusi yaitu proses terendahnya senyawa target oleh solven dan difusi yaitu proses terbawanya senyawa-senyawa oleh solven keluar sel atau matriks alami (Saifudin, 2014).

Ada beberapa jenis metode dalam melakukan ekstraksi. Jenis-jenis metode ekstraksi yang biasa digunakan adalah sebagai berikut :

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhrani, 2014).

b. *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction*

Merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah ultrasonik dan *ultrasound*. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi (Mukhrani, 2014).

c. Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan

menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

d. *Soxhlet*

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu *reflux*. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).

e. *Reflux* dan Destilasi Uap

Pada metode *reflux*, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Seidel, 2006).

Proses ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor yang menentukan hasil dari suatu ekstraksi. Faktor-faktor tersebut adalah sebagai berikut:

a) Pemilihan jenis pelarut

Jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi akan mempengaruhi jenis senyawa bioaktif yang terekstrak karena masing-masing pelarut mempunyai efisiensi dan selektifitas yang berbeda untuk melarutkan komponen bioaktif dalam bahan. Konsentrasi dari jenis pelarut juga akan berpengaruh terhadap senyawa bioaktif yang terekstrak. Semakin tinggi konsentrasi pelarut maka proses ekstraksi akan cenderung lebih efektif dan tidak membutuhkan waktu

yang lama. Pelarut hendaknya tidak berbahaya bagi pekerja, tidak bersifat racun, tidak mudah terbakar dan tidak bersifat korosif terhadap peralatan ekstraksi. Pelarut yang banyak digunakan dalam proses ekstraksi adalah aseton, etanol, metanol, etil asetat, kloroform, heksana dan etilen diklorida (Amiarsi dkk., 2006).

b) Perlakuan Pendahuluan Terhadap Bahan

Persiapan bahan baku sebelum proses ekstraksi mencakup pengeringan bahan dan pengecilan ukuran bahan hingga mencapai ukuran yang tepat sesuai dengan keperluan ekstraksi. Ukuran partikel bahan merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap keberhasilan proses ekstraksi. Semakin kecil ukuran partikel, semakin besar luas bidang kontak antara padatan dan pelarut, serta semakin pendek jalur difusinya, yang menjadikan laju transfer massa semakin tinggi (Nugroho dkk., 2008). Selain itu, waktu yang diperlukan komponen untuk keluar dari bahan menjadi lebih singkat sehingga proses ekstraksi dapat berlangsung lebih cepat. Partikel bahan setelah pengecilan sebaiknya berukuran seragam untuk mempermudah difusi pelarut ke dalam bahan. Bahan yang terlalu halus juga dapat menggumpal sehingga sukar ditembus pelarut. Oleh karena itu ukuran partikel yang baik untuk proses ekstraksi adalah serbuk dengan ukuran 0,5 mm. Pengeringan bahan sampai kadar air tertentu juga merupakan salah satu perlakuan pendahuluan terhadap bahan sebelum proses ekstraksi untuk mengurangi kadar air dalam ekstrak. Kadar air yang tinggi dapat menyebabkan hasil ekstrak mengandung komponen larut air seperti pati dan gula. Umumnya tumbuhan dikeringkan pada suhu kamar dengan suhu kurang dari 30°C dan terhindar dari sinar matahari langsung. Radiasi sinar ultraviolet akibat pengeringan dengan matahari langsung dapat menyebabkan terjadinya perubahan komposisi senyawa penyusun bahan (Ramadhan dan Phaza, 2010).

c) Pengaturan Kondisi Ekstraksi

Lama ekstraksi menentukan jumlah komponen yang dapat diekstrak dari bahan. Lama ekstraksi berhubungan dengan waktu kontak antara bahan dan pelarut. Semakin lama waktu ekstraksi maka kesempatan untuk bersentuhan antara bahan dan pelarut semakin besar sehingga kelarutan komponen bioaktif dalam larutan akan meningkat. Proses pengadukan larutan merupakan salah satu faktor penting dalam proses ekstraksi untuk mempercepat pelarutan zat padat dan meningkatkan laju difusi bahan terlarut. Pergerakan pelarut disekitar bahan akibat pengadukan dapat mempercepat kontak bahan dengan pelarut dan memindahkan komponen dari permukaan bahan ke dalam larutan dengan jalan

membentuk suspensi serta melarutkan komponen tersebut ke dalam media pelarut. Pengadukan dapat dilakukan dengan cara mekanis, penyemprotan udara atau dengan kombinasi keduanya (Ramadhan dan Phaza, 2010).

d) Perbandingan Jumlah Pelarut dan Bahan

Semakin besar volume pelarut yang digunakan dibandingkan jumlah bahan yang diekstrak maka rendemen yang dihasilkan juga semakin besar. Semakin banyak pelarut yang ditambahkan maka semakin besar kemampuan pelarut untuk melarutkan bahan sehingga semakin banyak komponen bahan yang dapat terekstrak oleh pelarut. Rendemen hasil ekstraksi akan terus meningkat hingga larutan menjadi jenuh. Setelah titik jenuh larutan, tidak akan terjadi peningkatan rendemen dengan penambahan pelarut (Amiarsi dkk., 2006).

2.6 Gelombang Ultrasonik

Gelombang ultrasonik merupakan gelombang mekanik longitudinal yang frekuensinya melampaui batas dengar telinga manusia (diatas 20 kHz), dan gelombangnya menyebar dalam medium baik padat, cair dan gas yang disebabkan oleh osilasi bolak balik partikel pada titik keseimbangan. Gelombang ultrasonik disebut dengan gelombang mekanik longitudinal karena memiliki arah perambatan gelombang sejajar dengan energi rambatnya (Wirza, 2008). Selama perjalanannya di dalam medium, gelombang ultrasonik mengalami ortenuasi karena adanya peristiwa-peristiwa pemantulan, hamburan dan absorpsi sehingga intensitasnya berkurang. Disamping sifat-sifat ini ada sifat-sifat karakteristik seperti dapat menimbulkan kalor, gaya-gaya ultrasonik *steady*, kavitasi dan stress mekanik yang besar (Mansyur dkk., 2010).

Gelombang ultrasonik diklasifikasikan menjadi dua berdasarkan besarnya frekuensi dan aplikasinya. Pertama yaitu frekuensi tinggi (*diagnostic ultrasound*) dengan fekuensi 2-10 MHz dan kedua yaitu frekuensi rendah (*power ultrasound*) dengan fekuensi 20-100 kHz (Mason, 1990 dalam Winata, 2014). Untuk memahami bagaimana cara tumbukan kavitasi dapat mempengaruhi perubahan kimia maka harus mempertimbangkan bermacam kemungkinan akibat tumbukan tersebut dalam suatu sistem yang berbeda. Didalam reaksi fase cair yang homogen, ada dua pengaruh besar. Pertama yaitu rongga yang dibentuk tidak mungkin berupa suatu ruang hampa tetapi pasti berisi uap air dari media cair atau bahan reaktan gas-gas yang mudah menguap. Selama tumbukan, uap ini akan diperlakukan dalam kondisi temperatur yang ekstrim dan tekanan yang

tinggi sehingga menyebabkan molekul-molekul terpecah dan menghasilkan jenis radikal aktif. Bagian ini kemudian bereaksi dimanapun dalam gelembung yang pecah atau setelah migrasi ke dalam cairan. Kedua yaitu tumbukan yang mendadak dari gelembung juga mengakibatkan satu aliran masuk tiba-tiba dari cairan itu untuk mengisi kekosongan yang menghasilkan gaya geser didalam melingkupi cairan yang dapat memecahkan ikatan kimia dalam segala material dan kemudian larut dalam cairan atau mengganggu lapisan batas (*boundary layer*) yang menjembatani pengangkutan tersebut (Gogate *et al.*, 2006).

2.7 Metode Ekstraksi Ultrasonik

2.7.1 Definisi

Metode ekstraksi menggunakan ultrasonik merupakan salah satu teknik ekstraksi padat-cair. Teknik ini dikenal dengan sonokimia yaitu pemanfaatan efek gelombang ultrasonik untuk mempengaruhi perubahan-perubahan yang terjadi pada proses (Fuadi, 2012). Ekstraksi secara ultrasonik merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah ultrasonik dan *ultrasound*. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi (Mukhriani, 2014). Keuntungan dari ekstraksi dengan ultrasonik daripada teknik konvensional seperti maserasi adalah dapat mengekstraksi polifenol lebih tinggi dalam waktu yang singkat sehingga lebih hemat energi (Veggi *et.al.*, 2013). Selain itu, komponen fenolik yang sensitif terhadap suhu akan lebih stabil dengan menggunakan ekstraksi ultrasonik dibandingkan dengan metode ekstraksi *soxhlet* dan metode ekstraksi konvensional lainnya dimana peningkatan suhu digunakan (Zhang *et al.*, 2008).

2.7.2 Cara Kerja

Cara kerja metode ultrasonik dalam mengekstraksi pada dasarnya berdasarkan adanya gelombang ultrasonik yang digunakan. Gelombang Ultrasonik terbentuk dari pembangkitan *ultrasound* dari kavitasitas mikro pada sekeliling bahan yang akan diekstraksi. Hal tersebut menyebabkan terjadinya pemanasan pada bahan sehingga terjadi pelepasan senyawa ekstrak pada bahan. Terdapat efek yang dihasilkan dengan adanya pemanasan tersebut yaitu

terjadinya pengacauan dinding sel yang membebaskan kandungan senyawa yang ada dalam bahan serta peningkatan difusi ekstrak. Efek mekanik yang dihasilkan adalah meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding membran sel, mendukung pelepasan komponen sel, dan meningkatkan transfer massa (Keil, 2007).

Gelombang ultrasonik dengan intensitas tinggi menyebabkan timbulnya gelembung-gelembung kecil dalam cairan. Ketika gelembung tersebut telah mencapai volume maksimal yang tidak cukup lagi menyerap energi, gelembung tersebut akan pecah yang disebut dengan fenomena "kavitasi" (Kuldiloke, 2002). Kavitasi ultrasonik akan menghasilkan daya patah yang akan memecah dinding sel pada bahan secara mekanis (Liu, 2010). Fenomena kavitasi ultrasonik menghasilkan arus dalam pelarut yang meningkatkan laju transfer massa antara sampel dengan medium pelarut. Hal tersebut menyebabkan efek mekanis pada dinding sel sampel yang mengakibatkan gangguan sel dan kerusakan partikel sehingga komponen yang diekstrak dapat keluar dari sel tersebut (Paniwnyk *et al.*, 2009; Da-Porto and Decorti, 2009).

2.7.3 *Ultrasonic Bath*

Ultrasonic bath merupakan salah satu yang memiliki bentuk seperti bejana kosong (Brennan, 2006). *Ultrasonic bath* sendiri diklasifikasikan menjadi 3 tipe. Pertama yaitu *ultrasonic bath* tipe biasa yang sering ditemukan di laboratorium. *Ultrasonic bath* jenis ini hanya bekerja dalam satu frekuensi, biasanya 40 kHz dan bisa dilengkapi dengan kontrol suhu. Tipe kedua yaitu *ultrasonic bath* yang tersedia dalam *multifrequency* dan beroperasi secara simultan. Tipe ketiga merupakan jenis yang termasuk dalam teknologi yang sudah maju karena dilengkapi dengan *dual frequency of sonication* dimana tipe ini didesain dapat bekerja dengan satu dari dua frekuensi dalam satu waktu yaitu antara 25/45 atau 35/130 kHz. Selain itu *ultrasonic bath* tipe ketiga ini dapat diatur intensitas sonikasi dengan kontrol amplitudo (0-100%) serta dilengkapi dengan pemanasan dan *timer*. Sebagian besar aplikasi dari *ultrasonic bath* dilakukan lebih lama dari 30 menit dan sebagai konsekuensi ultrasonikasi yang berulang, *bulk liquid* akan menghangat dimana reaksi endotermik akan mendapat keuntungan dari proses penghangatan tersebut (Martinez, 2009). Kenampakan dari *ultrasonic bath* dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 *Ultrasonic Bath* (Rasfanjani, 2014)

Ultrasonic bath memiliki mesin yang mengubah energi ultrasonik yang dihasilkan dengan mengubah energi listrik menjadi getaran mekanis dengan menggunakan generator dan listrik piezo transduser. *Ultrasonic bath* termasuk kedalam jenis *power ultrasound* yaitu memiliki gelombang yang ditransmisikan berkisar 20-100 kHz. Komponen alat ultrasonik sistem batch ini terdiri dari *chamber* untuk meletakkan sampel yang diisi dengan akuades serta pengatur waktu. *Ultrasonic bath* biasanya menggunakan gelombang yang ditransmisikan sekitar 50 kHz dengan daya 600 watt (Gogate *et al.*, 2006).

Ultrasonic bath merupakan salah satu alat aplikasi dari ultrasonik dalam kimia analitik yang diaplikasikan secara tidak langsung terhadap sampel. Dalam alat ini, gelombang ultrasonik pertama kali akan melewati media cairan dalam alat ultrasonik tersebut dan kemudian akan melewati dinding wadah sampel (Martinez, 2009). Gelombang bunyi yang dihasilkan oleh tenaga listrik (lewat *transducers*) diteruskan oleh media cairan ke medan yang dituju melalui fenomena kavitasi. *Transducers* selalu berada pada bagian dasar tangki air, yang dioperasikan berkisar antara 40 kHz. Cairan yang dimaksud dalam tangki ultrasonik harus diatur agar seluruh bagian bahan terkena gelombang ultrasonik sehingga ekstraksi berjalan maksimal (Brennan, 2006).

2.8 Etanol

Etanol (C_2H_5OH) merupakan suatu pelarut yang tidak berwarna atau transparan, mudah terbakar dan mudah menguap. Etanol memiliki titik didih $78,3^{\circ}C$ dan merupakan senyawa yang mudah menguap. Etanol juga sering dikenal dengan nama etil alkohol atau alkohol dan merupakan senyawa golongan hidroksil karena memiliki gugus OH. Pelarut ini mudah dapat

bercampur dengan air, eter, dan kloroform. Etanol biasanya terbentuk dari hasil fermentasi suatu material biologi seperti karbohidrat. Etanol membeku pada suhu $-117,3^{\circ}\text{C}$ dengan berat molekul 46,1 dan memiliki kerapatan 0,789 pada suhu 20°C . Pelarut etanol memiliki nilai kalor 7077 kal/gram, panas laten penguapan 204 kal/gram dan angka oktan 91-105 (Hambali dkk., 2008).

Sifat-sifat fisik etanol utamanya dipengaruhi oleh keberadaan gugus hidroksil dan pendeknya rantai karbon etanol. Gugus hidroksil dapat berpartisipasi dalam ikatan hidrogen, sehingga membuatnya cair dan lebih sulit menguap daripada senyawa organik lainnya dengan massa molekul yang sama. Etanol termasuk golongan alkohol primer dimana karbon yang berikatan dengan gugus hidroksil paling tidak memiliki dua hidrogen atom yang terikat dengannya juga. Reaksi kimia yang dijalankan oleh etanol kebanyakan berkulat pada gugus hidroksilnya (Lei *et al.*, 2002).

Pelarut organik sebagai pengekstrak secara umum terdiri dari dua jenis yaitu pelarut polar dan pelarut non polar. Kedua jenis pelarut tersebut dibedakan berdasarkan kemampuan gaya tolak menolak antara dua partikel yang bermuatan listrik dalam suatu molekul yang disebut sebagai konstanta dielektrik. Semakin tinggi konstanta dielektrik suatu pelarut maka pelarut tersebut semakin polar sedangkan semakin rendah konstanta dielektrik suatu pelarut maka pelarut tersebut semakin non polar (Saifudin, 2014). Nilai konstanta dielektrik dari beberapa jenis pelarut organik dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Nilai Konstanta Dielektrik Beberapa Pelarut Organik

Pelarut	Konstanta Dielektrik	Pelarut	Konstanta Dielektrik
n-heksan	1,90	Aseton	20,7
Heptan	1,92	Etanol	25,3
Benzen	2,28	Metanol	33,0
Kloroform	4,81	Asetonitril	36,6
Etil eter	5,0	Air	80,0

Sumber: Saifudin (2014)

Perbedaan konstanta dielektrik pada tiap pelarut tersebut membuat adanya perbedaan tingkat kepolaran dari masing-masing pelarut sehingga mempengaruhi hasil ekstrak yang didapatkan karena pada dasarnya prinsip ekstraksi yaitu mengambil komponen pada bahan sesuai dengan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan. Pada ekstraksi kulit jeruk khususnya, jenis

pelarut yang digunakan juga mempengaruhi komponen bioaktif yang terekstrak. Pada penelitian yang dilakukan Rasfanjani (2014) mengenai ekstraksi ultrasonik kulit jeruk bali, menunjukkan nilai total fenol, kadar tanin dan aktivitas antioksidan tertinggi didapatkan pada ekstraksi yang menggunakan etanol 96%, dibandingkan dengan dua jenis pelarut lainnya yaitu etil asetat dan air. Pada hasil penelitian oleh Li *et al.* (2006), yang menggunakan metode konvensional dengan agitasi selama 3 jam pada suhu 80°C menemukan rendemen ekstraksi dari total fenol pada kulit dari beberapa jenis jeruk menggunakan metanol dan etanol menunjukkan hasil yang hampir sama. Pada penelitian Ma *et al.* (2008) dan Ma *et al.* (2009) melaporkan bahwa metanol 80% merupakan pelarut paling efektif untuk ekstraksi komponen fenolik dengan *Ultrasound-assiste extraction* (UAE) pada kulit *Citrus reticulata*, diikuti oleh pelarut etanol lalu isopropanol. Sedangkan pada penelitian oleh Zia-ur-Rehman (2006) menunjukkan rendemen komponen fenolik tertinggi pada ekstraksi kulit jeruk dengan metode maserasi didapatkan pada penggunaan pelarut metanol (19,87%), diikuti pelarut aseton (15%), dietil eter (12,75%), dan etanol (11,00%).

Beberapa penelitian terdahulu banyak menemukan bahwa metanol menghasilkan rendemen yang lebih tinggi. Bagaimanapun, pada aplikasi di industri, metanol sering tidak digunakan karena sifatnya yang beracun dan menyebabkan masalah lingkungan sehingga digantikan dengan pelarut organik lain yang tidak beracun seperti etanol, n-butanol, isopropanol atau petroleum eter. Karena efisiensi dan keamanannya, etanol lebih sering direkomendasikan untuk ekstraksi komponen fenol pada kulit jeruk untuk aplikasi makanan dan kosmetik (M'hiri *et al.*, 2014). Etanol akan lebih mudah mengekstrak komponen fenolik dengan kepolaran rendah seperti asam fenolik dan flavonoid dibandingkan dengan air yang akan lebih mudah mengekstrak komponen asam fenolik yang memiliki kepolaran lebih tinggi. Selain itu, etanol memiliki kemampuan untuk mengekstrak flavonoid dengan tingkat kepolaran rendah dan non polar (Sun *et al.*, 2015; Ghahroudi *et al.*, 2017).

III METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Desember 2017 sampai Juli 2018 yang dilakukan di beberapa tempat yaitu Laboratorium Rekayasa dan Teknologi Pengolahan Pangan, Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan, Laboratorium Nutrisi Pangan, dan Laboratorium Instrumen Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya serta Laboratorium Kimia Analisis Instrumentasi Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang .

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah *cabinet dryer*, blender kering/*dry mill* (Merk National), ayakan 80 mesh, timbangan analitik, *ultrasonic bath* (Merk Elma S40), *rotary vacuum evaporator* (Merk IKA RV10), pisau, kertas saring, alat semprot nitrogen, spektrofotometer UV-Vis (Merk Shimadzu), oven listrik, *glassware* (tabung reaksi, pipet ukur, pipet tetes, gelas ukur, labu ukur, erlenmeyer, gelas beker, pengaduk kaca), spatula, bulb, rak tabung reaksi, *vortex*, aluminium foil, corong plastik dan kaca, desikator, cawan petri.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan adalah kulit jeruk *baby java* dengan karakteristik umur buah 9-10 bulan dan warna hijau hingga hijau kekuningan, pelarut etanol teknis (konsentrasi 90%, 85%, 80%) dan akuades yang dibeli dari CV. Kridatama Persada. Metanol dan Na_2CO_3 pro analisis yang dibeli dari CV. Amani Media, NaOH 1M pro analisis yang dibeli dari CV. Makmur Sejati, DPPH (*diphenyl picrylhy drazyl*) 0,2 mM, asam tanat standar, follin-ciaocalteau (merk Merck), asam galat standar, quercetin, NaNO_2 , dan AlCl_3 yang dibeli dari Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan FTP UB, serta gas nitrogen yang dibeli dari PT. Tira Austenite Tbk.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial dengan 2 faktor. Faktor 1 merupakan

konsentrasi pelarut yang terdiri dari 3 level yaitu 80%, 85% dan 90% sedangkan faktor 2 merupakan lama waktu ekstraksi yang terdiri dari 3 level yaitu 10 menit, 20 menit dan 30 menit. Proses ekstraksi menggunakan jenis pelarut etanol. Dari kombinasi faktor-faktor tersebut diperoleh 9 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali ulangan sehingga didapatkan 27 kali perlakuan. Ekstraksi akan dilakukan satu kali untuk tiap ulangan. Berikut akan disajikan kombinasi perlakuan penelitian pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Penelitian

Konsentrasi Pelarut Etanol (K)	Lama Waktu Ekstraksi (T)		
	T1 (10 menit)	T2 (20 menit)	T3 (30 menit)
K1 (80%)	K1T1	K1T2	K1T3
K2 (85%)	K2T1	K2T2	K2T3
K3 (90%)	K3T1	K3T2	K3T3

Sehingga didapatkan rancangan sebagai berikut:

K1T1 : Ekstraksi dengan pelarut etanol konsentrasi 80% dengan lama waktu ekstraksi 10 menit

K2T1 : Ekstraksi dengan pelarut etanol konsentrasi 85% dengan lama waktu ekstraksi 10 menit

K3T1 : Ekstraksi dengan pelarut etanol konsentrasi 90% dengan lama waktu ekstraksi 10 menit

K1T2 : Ekstraksi dengan pelarut etanol konsentrasi 80% dengan lama waktu ekstraksi 20 menit

K2T2 : Ekstraksi dengan pelarut etanol konsentrasi 85% dengan lama waktu ekstraksi 20 menit

K3T2 : Ekstraksi dengan pelarut etanol konsentrasi 90% dengan lama waktu ekstraksi 20 menit

K1T3 : Ekstraksi dengan pelarut etanol konsentrasi 80% dengan lama waktu ekstraksi 30 menit

K2T3 : Ekstraksi dengan pelarut etanol konsentrasi 85% dengan lama waktu ekstraksi 30 menit

K3T3 : Ekstraksi dengan pelarut etanol konsentrasi 90% dengan lama waktu ekstraksi 30 menit

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan dalam 2 tahapan yaitu proses pembuatan bubuk kulit jeruk *baby java* dan proses ekstraksi bubuk kulit jeruk *baby java* menggunakan *ultrasonic bath*. Sebelumnya dilakukan penelitian pendahuluan untuk mengetahui rendemen dari bahan, perlakuan preparasi yang sesuai, dan kondisi pengeringan yang sesuai.

3.4.1 Pembuatan Bubuk Kulit Jeruk *Baby Java*

Tahapan ini bertujuan untuk menghasilkan bubuk dari kulit jeruk *baby java* yang juga sebagai perlakuan pengecilan ukuran sehingga proses ekstraksi akan berjalan lebih efektif. Proses pembuatan bubuk kulit jeruk *baby java* adalah sebagai berikut:

1. Kulit jeruk *baby java* dipilih dan disortasi sesuai spesifikasi bahan baku (dilihat warna dan adanya pengotor pada kulit)
2. Dipotong dengan ketebalan kurang lebih 5 mm
3. Dilakukan pencucian dengan air mengalir hingga bersih
4. Ditiriskan hingga kering
5. Dilakukan pengeringan pada *cabinet dryer* dengan suhu 55°C selama 8 jam
6. Dihancurkan dengan blender kering
7. Dilakukan pengayakan menggunakan ayakan 80 mesh
8. Didapatkan hasil (bubuk kulit jeruk *baby java*)

3.4.2 Proses Ekstraksi Bubuk Kulit Jeruk *Baby Java*

Tahapan ini bertujuan untuk menghasilkan ekstrak kulit jeruk *baby java* dari bubuk kulit jeruk *baby java*. Proses ekstraksi bubuk kulit jeruk *baby java* adalah sebagai berikut:

1. Bubuk kulit jeruk *baby java* ditimbang menggunakan timbangan analitik sebanyak 10 gram.
2. Bubuk kulit jeruk *baby java* yang sudah ditimbang dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan 100 ml etanol teknis dengan konsentrasi masing-masing 80%, 85%, dan 90%
3. Dilakukan proses ekstraksi bubuk kulit jeruk *baby java* menggunakan *ultrasonic bath* selama 10 menit, 20 menit, dan 30 menit dengan suhu 35°C, frekuensi 37kHz
4. Dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring halus

5. Didapatkan filtrat ekstrak bubuk kulit jeruk *baby java*
6. Dilakukan penguapan etanol 80%, 85%, dan 90% menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 40°C dan kecepatan 50 rpm
7. Dilakukan penyemprotan dengan gas N₂
8. Didapatkan hasil (ekstrak kulit jeruk *baby java*)

3.5 Parameter Penelitian

Pengamatan yang dilakukan terhadap ekstrak kulit jeruk *baby java* merupakan pengamatan terhadap senyawa bioaktif yang dapat dihasilkan dari ekstrak kulit jeruk *baby java*. Parameter yang diamati adalah yang berkaitan dengan seberapa besar kandungan senyawa bioaktif pada kulit jeruk *baby java* yang dapat berperan sebagai antioksidan. Analisa yang dilakukan terhadap bubuk kulit jeruk *baby java* meliputi:

- Aktivitas antioksidan metode DPPH IC₅₀ (Molyneux, 2004; Pinela *et al.*, 2012)
- Kadar Air metode Gravimetri/Oven (AOAC, 1996; Wrostedt *et al.*, 2005)
- Kadar Tanin (AOAC, 1995)
- Total Fenol (Modifikasi Sharma, 2011)
- Total Flavonoid (Modifikasi Li *et al.*, 2007)
- Rendemen (AOAC, 1984)

Analisa yang dilakukan terhadap ekstrak kulit jeruk *baby java* meliputi:

- Aktivitas antioksidan metode DPPH IC₅₀ (Molyneux, 2004; Pinela *et al.*, 2012)
- Kadar Tanin (AOAC, 1995)
- Total Fenol (Modifikasi Sharma, 2011)
- Total Flavonoid (Modifikasi Li *et al.*, 2007)
- Rendemen (AOAC, 1984)

Hasil perlakuan terbaik kemudian diidentifikasi senyawa golongan flavonoid menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometric* (LC-MS).

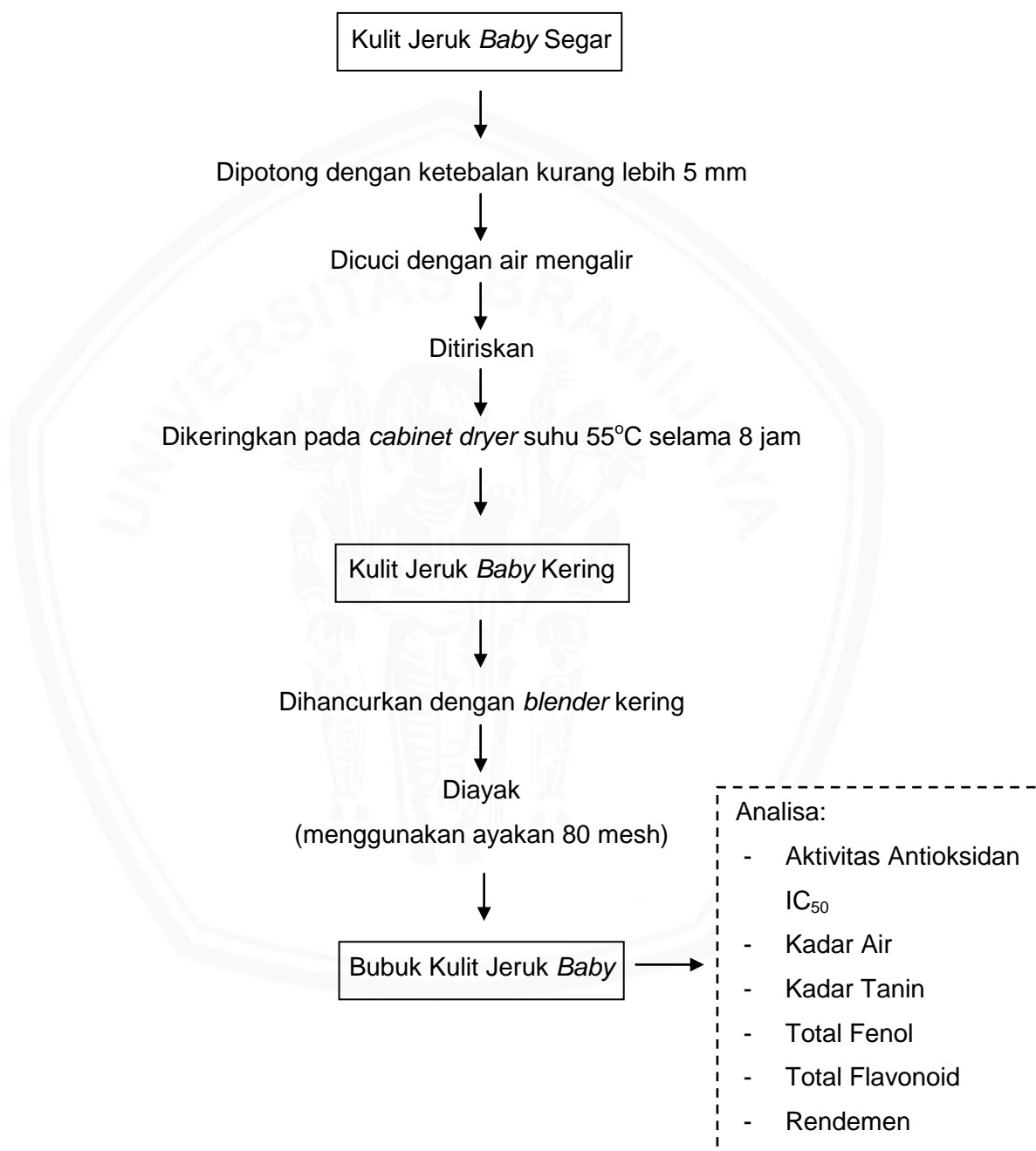
3.6 Analisa Data

Analisa data dilakukan dengan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) menggunakan program *Minitab* 17 untuk mengetahui apakah ada perbedaan atau pengaruh pada tiap perlakuan terhadap parameter yang diuji. Apabila hasil uji pada tiap perlakuan dan interaksi kedua perlakuan menunjukkan terdapat beda nyata maka dilakukan uji lanjut dengan *Tukey Simultaneous* 95%

menggunakan program Minitab 17. Pemilihan perlakuan terbaik dilakukan dengan metode *Multiple Attribute* (Zeleny, 1982).

3.7 Diagram Alir Penelitian

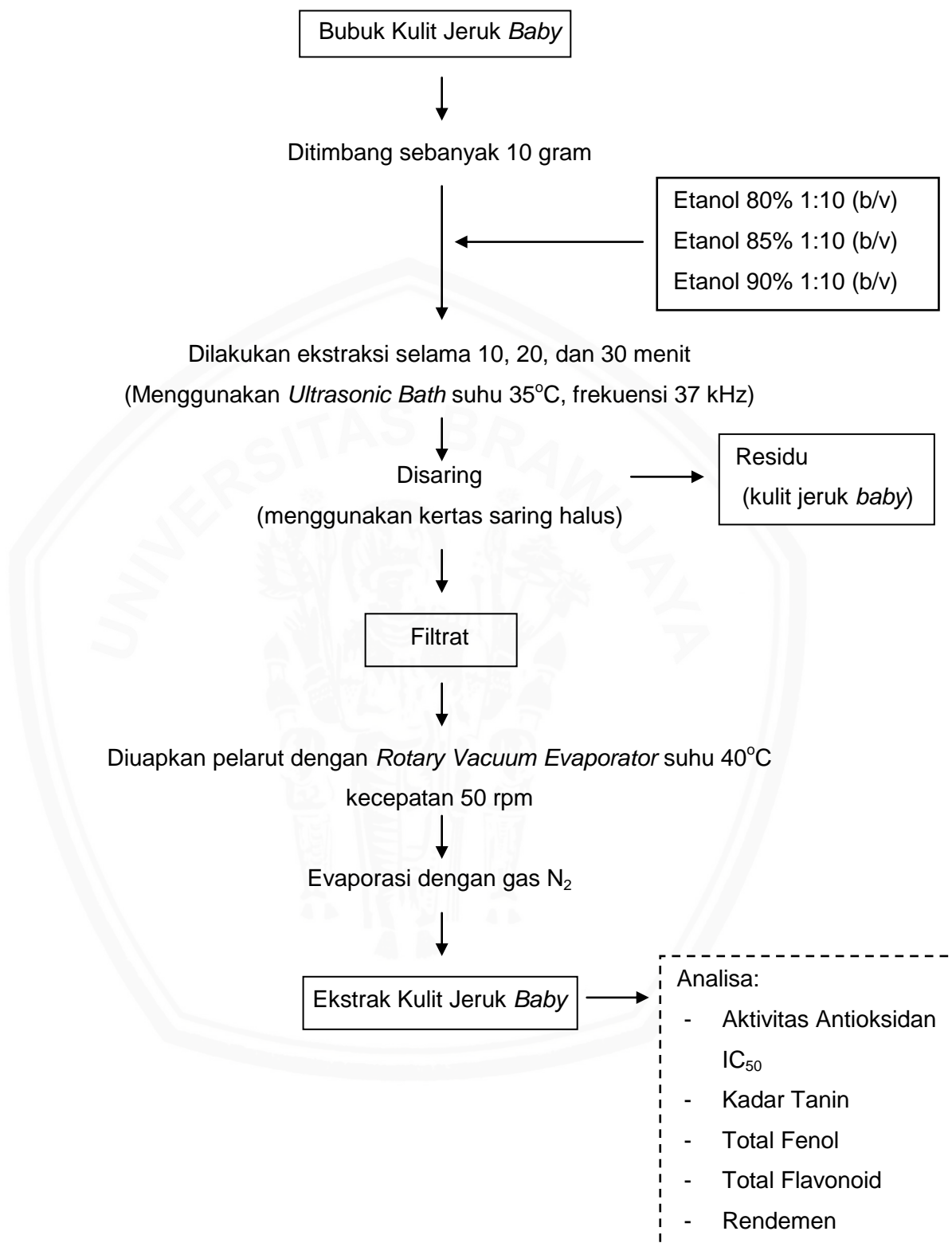
3.7.1 Pembuatan Bubuk Kulit Jeruk *Baby Java*



Gambar 3.1 Diagram Alir Pembuatan Bubuk Kulit Jeruk *Baby Java*

(Modifikasi metode Rao *et al.*, 2011)

3.7.2 Proses Ekstraksi Bubuk Kulit Jeruk *Baby Java*



Gambar 3.2 Diagram Alir Proses Ekstraksi Bubuk Kulit Jeruk *Baby Java*

(Modifikasi Metode Rao *et al.*, 2011)

IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan merupakan kulit jeruk varietas *baby java* yang didapatkan dari Desa Selorejo, Kecamatan Dau, Malang. Bahan baku yang dipilih berupa buah jeruk *baby java* dengan spesifikasi warna kulit hijau hingga hijau kekuningan dengan umur buah sekitar 9-10 bulan. Kulit jeruk *baby java* yang sudah terpisah dari buahnya kemudian dikeringkan dan dihaluskan hingga menjadi bubuk kulit jeruk. Menurut Raajeswari dan Nischala (2017), perlakuan kulit jeruk yang dikeringkan untuk dijadikan bubuk bertujuan untuk mengurangi kesulitan dalam penanganan dan penyimpanan dikarenakan adanya pengurangan berat dan volume. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga dapat menghentikan atau memperlambat pertumbuhan mikroorganisme pembusukan serta terjadinya reaksi kimia.

Bubuk kulit jeruk tersebut kemudian dianalisa rendemen, kadar air, total fenol, total flavonoid, kadar tanin, dan aktivitas antioksidan IC_{50} . Hasil analisa pada bubuk kulit jeruk *baby java* dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Perbandingan Karakteristik Bubuk Kulit Jeruk

Parameter	Hasil Analisa (Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby java</i>)	Literatur
Rendemen (% bb)	12,57 ± 1,37	11,13 ± 0,01 ^a
Kadar air (% bb)	14,75 ± 0,12	10,30 ± 0,01 ^b
(% bk)	17,30 ± 0,16	-
Total Fenol (mg GAE/g)	0,46 ± 0,01	9,40 ± 0,01 ^c
Total Flavonoid (mg QE/g)	0,14 ± 0,01	4,20 ± 0,02 ^c
Kadar Tanin (mg TAE/g)	2,44 ± 0,08	7,43 ± 2,8 ^d
Nilai IC_{50} (mg/L)	626,95 ± 25,85	-

Keterangan: 1) Setiap data hasil analisa merupakan rerata dari 3 ulangan ± standar deviasi

2) bb= basis basah, bk= basis kering, GAE= *Gallic Acid Equivalent*, QE= *Quercetine Equivalent*, TAE= *Tannic Acid Equivalent*

^a Rahmawati (2013)

^b Ezekiel *et al.* (2014)

^c Omoba *et al.* (2015)

^d Rathod and Annapure (2016)

Literatur yang digunakan sebagai pembandingan merupakan bubuk kulit jeruk dengan berbagai varietas buah jeruk yaitu *Citrus maxima* atau jeruk bali (Rahmawati, 2013), *Citrus sinensis* (Ezekiel *et al.*, 2014; Rathod and Annapure,

2016), dan Jeruk manis varietas Navel (Omoba *et al.*, 2015) dikarenakan penelitian mengenai senyawa bioaktif pada kulit jeruk varietas *baby java* masih belum banyak dilakukan sehingga digunakan kulit jeruk dengan varietas yang mendekati dengan jeruk baby java yaitu *Citrus sinensis* atau jeruk manis sebagai pembanding. Berdasarkan Tabel 4.1 menunjukkan rendeman bubuk kulit jeruk *baby java* memiliki nilai sebesar $12,57 \pm 1,37\%$ (basis basah). Nilai rendemen basis basah didapatkan dari perhitungan jumlah berat bubuk yang lolos ayakan 80 mesh dibagi dengan berat kulit jeruk segar. Dari nilai tersebut menunjukkan bahwa selama proses pembuatan bubuk kulit jeruk *baby java* terjadi kehilangan sebesar 87,43%. Jika dibandingkan dengan literatur maka rendemen bubuk kulit jeruk *baby java* lebih tinggi dibandingkan dengan literatur. Perhitungan rendemen bubuk kulit jeruk *baby java* menunjukkan nilai ekonomis dari proses pengeringan dan pembuatan bubuk kulit jeruk *baby java* yang digunakan sebagai bahan baku dalam proses ekstraksi (Wijaya, 2018).

Analisa kadar air yang dilakukan menggunakan metode gravimetri dengan oven. Berdasarkan hasil analisa, kadar air basis basah dan basis kering dari bubuk kulit jeruk *baby java* berturut-turut sebesar $14,75 \pm 0,12\%$ dan $17,30 \pm 0,16\%$. Hasil kadar air basis basah pada bubuk kulit jeruk *baby java* lebih tinggi dibandingkan dengan literatur. Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga dapat menghentikan atau memperlambat pertumbuhan mikroorganisme pembusukan serta memperlambat terjadinya reaksi kimia. Kadar air yang tinggi dapat mengganggu proses ekstraksi dengan berbagai konsentrasi pelarut karena tingkat kepolaran yang berbeda (Raajeswari dan Nischala, 2017; Toledo, 2007).

Kandungan total fenol bubuk kulit jeruk hasil analisa didapatkan sebesar $0,46 \pm 0,01$ mg GAE/g. Analisa kadar total fenol dilakukan dengan mereaksikan sampel dengan reagen folin-ciocalteau dan dibandingkan dengan standar asam galat. Hasil analisa total fenol pada bubuk kulit jeruk *baby java* lebih rendah dibandingkan literatur. Perbedaan hasil analisa dengan literatur dapat disebabkan karena adanya perbedaan tingkat kematangan, kondisi lingkungan, jenis konservasi ekstraksi substrat dan faktor genetik (Lagha-Benamrouche and Madani, 2013). Dari hasil beberapa penelitian menunjukkan bahwa dalam kulit jeruk terkandung senyawa fitokimia salah satunya yaitu komponen fenolik (Al-Saadi *et al.*, 2009; Arora and Kaur, 2013; Raajeswari and Nischala, 2017; Gotmare and Gade, 2018). Jumlah dari komponen fenolik kulit jeruk bervariasi

tergantung pada jenis jeruknya. Komponen fenolik dan turunannya merupakan antioksidan penting yang menunjukkan efisiensi terhadap penangkalan radikal bebas (M'hiri *et al.*, 2015; Sawalha *et.al.*, 2009; Prior and Cao, 2000).

Kadar total flavonoid dianalisa menggunakan metode kolorimetrik aluminium klorida. Kandungan total flavonoid bubuk kulit jeruk hasil analisa didapatkan sebesar $0,14 \pm 0,01$ mg QE/g. Hasil analisa total flavonoid pada bubuk kulit jeruk *baby java* lebih rendah dibandingkan dengan literatur. Perbedaan hasil analisa dengan literatur dapat disebabkan karena adanya perbedaan kondisi lingkungan budidaya dan distribusi geografis sehingga dapat memodifikasi komponen dalam suatu tanaman (Hossain and Shah, 2011, M'hiri *et al.*, 2015). Secara umum, daun, bunga, buah atau tanaman itu sendiri mengandung flavonoid glikosida, jaringan berkayu mengandung flavonoid aglikon, dan biji dapat mengandung kedua jenis flavonoid (Fennema *et al.*, 2008).

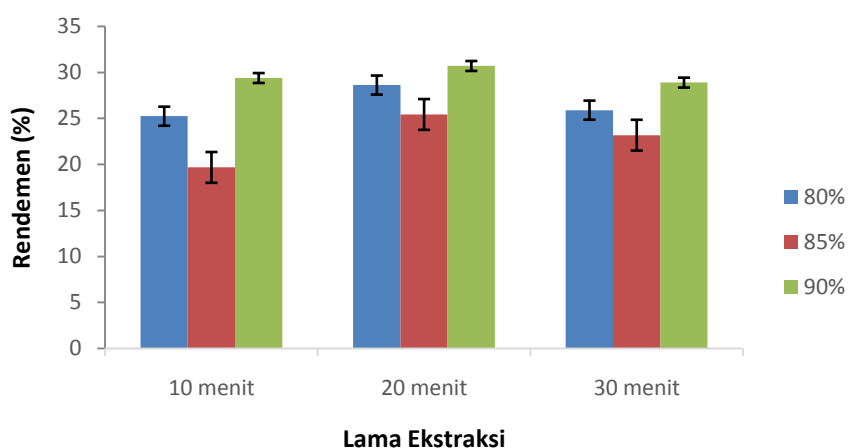
Kadar tanin pada bubuk kulit jeruk *baby java* hasil analisa sebesar $2,44 \pm 0,08$ mg TAE/g. Kadar tanin pada bubuk kulit jeruk *baby java* diukur menggunakan reagen folin-ciocalteau. Hasil analisa kadar tanin pada bubuk kulit jeruk *baby java* lebih rendah dibandingkan dengan literatur. Perbedaan dengan literatur dapat disebabkan karena faktor varietas, tingkat kematangan dan kondisi lingkungan budidaya yang dapat mempengaruhi komponen didalamnya. Tanin merupakan salah satu jenis polifenol yang bersifat pahit dan memiliki berat molekul yang besar serta memiliki sifat antibakteri, antioksidan, dan astringen (Ezeabara *et al.*, 2014; Desmiaty dkk., 2008). Hasil analisa menunjukkan nilai kadar tanin yang lebih tinggi dibandingkan dengan kadar total fenolnya. Hal tersebut disebabkan karena pengukuran kadar tanin menggunakan ekuivalen asam tanat sebagai standar yang lebih besar daripada kadar fenol menggunakan ekuivalen asam galat sebagai standar (Wijaya, 2018). Dalam beberapa penelitian juga menunjukkan nilai kadar tanin yang lebih tinggi dari kadar fenol pada kulit jeruk (Al-Saadi *et al.*, 2009; Ezekiel *et al.*, 2014; Ezeabara *et al.*, 2014; Gotmare and Gade, 2018).

Aktivitas antioksidan bubuk kulit jeruk diukur menggunakan DPPH berdasarkan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} hasil analisa pada bubuk kulit jeruk sebesar $626,95 \pm 25,85$ mg/l. Nilai IC_{50} merupakan jumlah konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat radikal sebanyak 50%. Semakin kecil nilainya menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidan pada sampel tersebut

(Molyneux, 2004; Li *et al.*, 2009). Aktivitas antioksidan pada kulit jeruk berkaitan dengan adanya kandungan polifenol pada kulit jeruk. Polifenol merupakan antioksidan alami pada tanaman, khususnya pada buah dan sayur, yang mana memiliki peran penting pada kesehatan manusia karena aktivitas penangkal radikal bebasnya, kofaktor antioksidan enzim, dan juga pengkelat dari prooksidan ion metal pada tubuh (Wojdylo *et al.*, 2007; Osman *et al.*, 2009; Safdar *et al.*, 2016).

4.2 Rendemen Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java*

Nilai rendemen pada ekstrak kulit jeruk *baby java* metode ultrasonik dengan kombinasi perlakuan konsentrasi etanol dan lama ekstraksi memiliki kisaran rerata antara 19,68 – 30,71% (Lampiran 3). Rerata nilai rendemen ekstrak kulit jeruk *baby java* dengan perlakuan konsentrasi etanol dan lama ekstraksi ultrasonik dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Grafik Rerata Nilai Rendemen Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi

Pada Gambar 4.1 menunjukkan kecenderungan perubahan nilai rendemen ekstrak akibat pengaruh konsentrasi etanol dan lama ekstraksi. Berdasarkan konsentrasi etanol, pada konsentrasi 85% terjadi penurunan nilai rendemen dari konsentrasi 80% dan kemudian terjadi peningkatan nilai rendemen pada konsentrasi 90% sedangkan berdasarkan lama ekstraksi terjadi peningkatan nilai rendemen pada lama ekstraksi ultrasonik 20 menit dan kemudian mengalami penurunan pada lama ekstraksi ultrasonik 30 menit.

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa faktor konsentrasi etanol dan lama ekstraksi berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap nilai rendemen ekstrak namun tidak terdapat interaksi ($\alpha=0,05$) antara faktor konsentrasi etanol dan lama ekstraksi pada parameter rendemen.

Uji lanjut dengan *Tukey Simultaneous* 95% dilakukan pada masing-masing faktor yaitu konsentrasi etanol dan lama ekstraksi untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan. Hasil uji lanjut *Tukey Simultaneous* 95% parameter rendemen pada faktor konsentrasi etanol dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Rerata Nilai Rendemen Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* Metode Ultrasonik Akibat Perlakuan Konsentrasi Etanol

Konsentrasi Etanol (%)	Rerata Rendemen (%)
80	26,59 \pm 1,79 b
85	22,77 \pm 2,90 c
90	29,67 \pm 0,93 a

Keterangan: 1) Setiap data hasil analisa merupakan rerata dari 3 ulangan \pm standar deviasi
2) Angka yang didampingi notasi berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha = 0,05$)

Pada Tabel 4.2 menunjukkan bahwa nilai rerata rendemen tertinggi diperoleh pada perlakuan konsentrasi etanol 90% yaitu sebesar 29,67 \pm 0,93% sedangkan nilai rerata rendemen terendah diperoleh pada perlakuan konsentrasi etanol 85% yaitu sebesar 22,77 \pm 2,90 %. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa nilai rendemen ekstrak turun pada konsentrasi etanol 85% kemudian meningkat kembali pada konsentrasi etanol 90%. Menurut Do *et al.* (2014), peningkatan konsentrasi air pada suatu pelarut akan meningkatkan rendemen ekstrak. Komponen lain selain senyawa fenolik dapat ikut terekstrak dan berkontribusi pada hasil rendemen yang tinggi. Hal itu dapat disebabkan karena kelarutan komponen seperti protein dan karbohidrat yang lebih tinggi dalam air daripada dalam etanol. Penggunaan kombinasi air dan pelarut organik dapat memfasilitasi ekstraksi bahan kimia yang larut dalam air dan atau pelarut organik. Seperti halnya pada penelitian yang dilakukan oleh Do *et al.* (2014) pada ekstrak tanaman *Limnophila aromatica* dimana ekstraksi dengan etanol absolut menghasilkan nilai rendemen ekstrak yang lebih rendah dibandingkan dengan menggunakan etanol dengan konsentrasi yang lebih rendah atau etanol yang dicampur dengan air. Namun di sisi lain, peningkatan konsentrasi etanol juga akan membantu dalam proses ekstraksi komponen lain yang lebih mudah terekstrak menggunakan pelarut etanol absolut karena mempunyai kesamaan

tingkat kepolaran dengan senyawa yang didapatkan. Pada penelitian Kholifah (2014) pada ekstrak buah pare menunjukkan ekstrak etanol 96% mengandung senyawa metabolit lebih banyak dibandingkan dengan ekstrak air. Pada ekstrak etanol 96% mengandung komponen flavonoid, saponin, poifenol dan tanin sedangkan pada ekstrak air hanya mengandung alkaloid, saponin, dan tanin. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat beberapa komponen yang lebih baik diekstrak dengan pelarut etanol sehingga menyebabkan terjadinya kenaikan rendemen pada konsentrasi etanol 90%. Seperti halnya pada penelitian yang dilakukan Dewi dkk. (2016) pada ekstrak selada laut dimana ekstraksi dengan etanol 90% cenderung menghasilkan rendemen lebih tinggi dibandingkan perlakuan ekstraksi dengan konsentrasi etanol 70% dan 80%. Menurut Mardaningsih dkk. (2012), semakin tinggi konsentrasi pelarut etanol yang digunakan untuk ekstraksi maka semakin besar daya merusak sel sehingga semakin banyak senyawa yang terekstrak dan rendemen yang dihasilkan semakin tinggi. Menurut Sun *et al.* (2015) dan Ghahroudi *et al.* (2017), Etanol akan lebih mudah mengekstrak komponen fenolik dengan kepolaran rendah seperti asam fenolik dan flavonoid dibandingkan dengan air yang akan lebih mudah mengekstrak komponen asam fenolik yang memiliki kepolaran lebih tinggi. Selain itu, etanol memiliki kemampuan untuk mengekstrak flavonoid dengan tingkat kepolaran rendah dan non polar. Diduga hal tersebut yang menyebabkan tingginya rendemen pada konsentrasi 90% dimana komponen yang lebih rendah tingkat kepolarannya akan bisa lebih terekstrak oleh pelarut etanol yang lebih tinggi jumlahnya dan juga bagian komponen yang lebih tinggi tingkat kepolarannya akan bisa terekstrak oleh pelarut air.

Hasil uji lanjut *Tukey Simultaneous* 95% parameter rendemen pada faktor lama ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Rerata Nilai Rendemen Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* Metode Ultrasonik Akibat Perlakuan Lama Ekstraksi

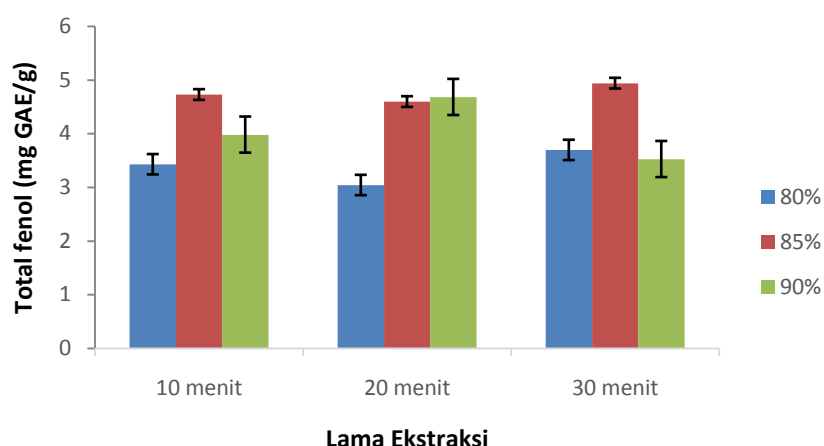
Lama Ekstraksi (menit)	Rerata Rendemen (%)
10	24,77 ± 4,87 b
20	28,26 ± 2,65 a
30	25,99 ± 2,86 b

Keterangan: 1) Setiap data hasil analisa merupakan rerata dari 3 ulangan ± standar deviasi
 2) Angka yang didampingi notasi berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha = 0,05$)

Pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa nilai rerata rendemen tertinggi diperoleh pada perlakuan lama ekstraksi 20 menit yaitu sebesar $28,26 \pm 2,65\%$ sedangkan nilai rerata rendemen terendah diperoleh pada perlakuan lama ekstraksi 10 menit yaitu sebesar $24,77 \pm 4,87\%$. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan rendemen ekstrak pada lama ekstraksi 20 menit kemudian terjadi penurunan rendemen ekstrak pada lama ekstraksi 30 menit. Hal tersebut disebabkan karena semakin lama proses ekstraksi akan meningkatkan hasil rendemen pada ekstrak. Hal tersebut berkaitan dengan efek kavitasi yang disebabkan oleh *ultrasound* intensitas tinggi (Li *et al.*, 2004). Proses kavitasi tersebut menyebabkan gangguan sel dan kerusakan partikel sehingga komponen yang diekstrak dapat keluar lebih mudah dari dalam sel (Paniwnyk *et al.*, 2009; Da-Porto and Decorti, 2009). Hal tersebut yang menyebabkan tingginya rendemen yang didapatkan namun kembali lagi pada hukum kedua Fick dari difusi bahwa pada proses ekstraksi akan terjadi titik keseimbangan pada waktu tertentu (Silva *et al.*, 2007; Tan *et al.*, 2013). Setelah mencapai titik keseimbangan maka proses ekstraksi akan menurun dan dapat berpengaruh pada rendemen yang dihasilkan. Hasil rendemen pada penelitian termasuk tinggi dapat disebabkan karena kemungkinan masih adanya komponen sisa pelarut yang belum benar-benar teruapkan atau hilang sehingga menambah bobot dari sampel.

4.3 Total Fenol Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java*

Nilai total fenol pada ekstrak kulit jeruk *baby java* metode ultrasonik dengan kombinasi perlakuan konsentrasi etanol dan lama ekstraksi memiliki kisaran rerata antara 3,04 – 4,94 mg GAE/g (Lampiran 4). Rerata nilai total fenol ekstrak kulit jeruk *baby java* dengan perlakuan konsentrasi etanol dan lama ekstraksi ultrasonik dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Grafik Rerata Total Fenol Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi

Pada Gambar 4.2 menunjukkan kecenderungan perubahan nilai total fenol ekstrak akibat pengaruh konsentrasi etanol dan lama ekstraksi. Berdasarkan konsentrasi etanol, pada konsentrasi 85% terjadi peningkatan nilai total fenol dari konsentrasi etanol 80% dan kemudian terjadi penurunan nilai total fenol pada konsentrasi 90%. Perbedaan terjadi pada lama ekstraksi 20 menit dimana terjadi peningkatan nilai total fenol dari konsentrasi 80% hingga 90%. Jika berdasarkan lama ekstraksi, terjadi penurunan nilai total fenol pada lama ekstraksi ultrasonik 20 menit dan kemudian mengalami peningkatan pada lama ekstraksi ultrasonik 30 menit. Perbedaan terjadi pada konsentrasi 90% dimana pada lama ekstraksi 20 menit terjadi peningkatan nilai total fenol kemudian mengalami penurunan nilai total fenol pada lama ekstraksi 30 menit.

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa faktor konsentrasi etanol berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap nilai total fenol ekstrak namun faktor lama ekstraksi tidak berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap nilai total fenol ekstrak. Hasil analisa ragam juga menunjukkan adanya interaksi antara faktor konsentrasi etanol dengan lama waktu ekstraksi terhadap nilai total fenol ekstrak. Uji lanjut dengan *Tukey Simultaneous* 95% dilakukan pada interaksi konsentrasi etanol dan lama ekstraksi untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan. Rerata nilai total fenol ekstrak kulit jeruk *baby java* akibat interaksi konsentrasi etanol dan lama ekstraksi disajikan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Rerata Total Fenol Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi

Konsentrasi Etanol (%)	Lama Ekstraksi (menit)	Total Fenol (mg GAE/g)
80	10	3,43 ± 0,37 cd
80	20	3,04 ± 0,18 d
80	30	3,70 ± 0,24 cd
85	10	4,73 ± 0,09 a
85	20	4,60 ± 0,14 ab
85	30	4,94 ± 0,30 a
90	10	3,98 ± 0,18 bc
90	20	4,68 ± 0,11 a
90	30	3,53 ± 0,32 cd

Keterangan: 1) Setiap data hasil analisa merupakan rerata dari 3 ulangan ± standar deviasi

2) Angka yang didampingi notasi berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha = 0,05$)

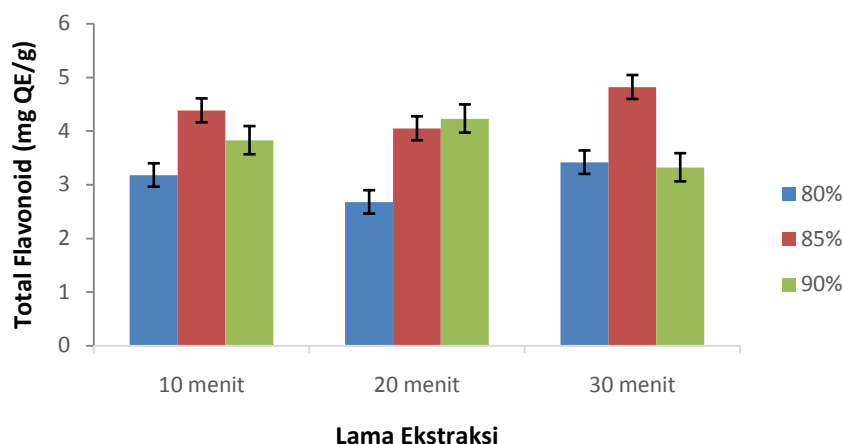
Pada Tabel 4.4 menunjukkan bahwa total fenol tertinggi diperoleh pada perlakuan konsentrasi etanol 85% dan lama ekstraksi 30 menit yaitu sebesar $4,94 \pm 0,30$ mg GAE/g sedangkan nilai total fenol terendah diperoleh pada perlakuan konsentrasi etanol 80% dan lama ekstraksi 20 menit yaitu sebesar $3,04 \pm 0,18$ mg GAE/g. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol dan semakin lama ekstraksi yang dilakukan maka cenderung meningkatkan nilai total fenol pada ekstrak namun pada konsentrasi yang terlalu tinggi, semakin lama waktu ekstraksi cenderung mengalami penurunan nilai total fenol pada ekstrak. Menurut Baoshan dan Isabel (2005) dan Wissam *et al.* (2012), oksigen merupakan salah satu faktor eksternal yang dapat memicu terjadinya reaksi degradasi komponen fenolik. Oksigen lebih larut dalam pelarut etanol absolut dan kelarutan oksigen akan semakin menurun pada konsentrasi etanol yang lebih rendah. Hal tersebut dapat menjelaskan bahwa komponen fenolik diduga akan lebih mudah terdegradasi oleh oksigen pada pelarut dengan konsentrasi yang terlalu tinggi sehingga menghasilkan total fenol yang lebih rendah. Selain itu, menurut Wissam *et al.* (2012) dan Safdar *et al.* (2016), senyawa fenolik memiliki kelarutan yang rendah pada pelarut absolut atau pelarut yang memiliki konsentrasi terlalu tinggi seperti pelarut etanol dan metanol disebabkan oleh ikatan hidrogen yang kuat antara protein dan polifenol. Kelarutan senyawa fenolik akan meningkat setelah adanya penambahan air ke pelarut organik tersebut sehingga dapat melemahkan ikatan hidrogen antara protein dan polifenol. Itu juga bisa disebabkan karena adanya peningkatan ionisasi pada polifenol dalam larutan tersebut. Sedangkan menurut Li *et al.*

(2012), peningkatan lama waktu ekstraksi menyebabkan peningkatan rendemen komponen fenolik hasil ekstraksi sehingga meningkatkan pula nilai total fenol ekstrak namun pada waktu tertentu saat mencapai kesetimbangan maka akan mengalami penurunan nilai rendemen komponen fenolik. Berdasarkan hal tersebut, diduga interaksi antara faktor konsentrasi etanol dan lama ekstraksi terjadi karena minimnya fenol yang dapat terdegradasi oleh oksigen dan keberadaan air pada konsentrasi etanol yang lebih tinggi sehingga dapat memutuskan ikatan hidrogen antara kompleks polifenol dengan protein, dibantu dengan semakin lamanya waktu ekstraksi sehingga kontak antara pelarut dengan bahan akan semakin maksimal. Oleh karena itu, nilai total fenol akan cenderung meningkat dengan peningkatan konsentrasi etanol dan lama ekstraksi.

Berdasarkan penelitian oleh Li *et al.* (2006), etanol dengan konsentrasi 85% merupakan konsentrasi optimal untuk ekstraksi komponen fenolik pada *citrus*. Total fenol mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi etanol hingga konsentrasi 85% kemudian total fenol mengalami penurunan. Kandungan asam fenolik dan asam fenolik glikosida biasanya menurun dengan meningkatnya konsentrasi etanol yang digunakan saat ekstraksi. Di sisi lain, komponen asam fenolik ester lebih berhasil diekstrak oleh pelarut yang kaya etanol (Waszkowiak and Gliszczynska-Swiglo, 2016). Ekstrak air mungkin mengandung konsentrasi asam fenolik polar yang lebih tinggi namun ekstrak etanol lebih tinggi mengandung komponen fenolik dengan kepolaran yang lebih rendah seperti asam fenolik ester dan flavonoid (Sun *et al.*, 2015; Ghahroudi *et al.*, 2017). Senyawa fenolik utama pada kulit jeruk manis secara umum terdiri dari asam fenolik seperti asam sinapat, asam ferulat, asam kumarat dan asama kafeat (Zefang *et al.*, 2016) dan *glycosylated flavanones* (narirutin dan hesperidin), flavon dan *polymethoxylated flavones* (diosmin, luteoin dan sinensetin) serta flavonol (rutin, quercetin, kaempferol) (Anagnostopoulou *et al.*, 2005; Tokusgulu and Hall, 2011 dalam Ghahroudi *et al.*, 2017). Diduga pada kulit jeruk *baby java* mengandung lebih banyak senyawa fenolik berupa asam fenolik dan *glycosylated flavanones* yang lebih tinggi polaritasnya sehingga kandungan fenolik akan cenderung lebih tinggi dalam ekstrak polar tinggi (konsentrasi etanol yang lebih rendah) dibandingkan dengan ekstrak polar rendah (konsentrasi etanol tinggi mendekati absolut).

4.4 Total Flavonoid Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java*

Nilai total flavonoid pada ekstrak kulit jeruk *baby java* metode ultrasonik dengan kombinasi perlakuan konsentrasi etanol dan lama ekstraksi memiliki kisaran rerata antara 2,68 – 4,82 mg QE/g (Lampiran 5). Rerata nilai total flavonoid ekstrak kulit jeruk *baby java* dengan perlakuan konsentrasi etanol dan lama ekstraksi ultrasonik dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Grafik Rerata Total Flavonoid Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi

Pada Gambar 4.3 menunjukkan kecenderungan perubahan nilai total flavonoid ekstrak akibat pengaruh konsentrasi etanol dan lama ekstraksi. Berdasarkan konsentrasi etanol, pada konsentrasi 85% terjadi peningkatan nilai total flavonoid dari konsentrasi 80% dan kemudian terjadi penurunan nilai total flavonoid pada konsentrasi 90%. Perbedaan terjadi pada lama ekstraksi 20 menit dimana pada konsentrasi etanol 80% hingga 90% terjadi peningkatan nilai total flavonoid pada ekstrak.

Jika berdasarkan lama ekstraksi, terjadi penurunan nilai total flavonoid pada lama ekstraksi ultrasonik 20 menit dan kemudian mengalami peningkatan pada lama ekstraksi ultrasonik 30 menit. Perbedaan terjadi pada konsentrasi 90% dimana pada lama ekstraksi 20 menit terjadi peningkatan nilai total flavonoid kemudian mengalami penurunan nilai total flavonoid pada lama ekstraksi 30 menit.

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa faktor konsentrasi etanol dan lama ekstraksi berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap nilai total flavonoid ekstrak.

Hasil analisa ragam juga menunjukkan adanya interaksi antara faktor konsentrasi etanol dengan lama waktu ekstraksi terhadap nilai total flavonoid ekstrak. Uji lanjut dengan *Tukey Simultaneous* 95% dilakukan pada interaksi konsentrasi etanol dan lama ekstraksi untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan. Rerata nilai total flavonoid ekstrak kulit jeruk *baby java* akibat interaksi konsentrasi etanol dan lama ekstraksi disajikan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Rerata Total Flavonoid Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi

Konsentrasi Etanol (%)	Lama Ekstraksi (menit)	Total Flavonoid (mg QE/g)
80	10	3,18 ± 0,11 e
80	20	2,68 ± 0,09 f
80	30	3,42 ± 0,17 e
85	10	4,38 ± 0,16 b
85	20	4,05 ± 0,10 cd
85	30	4,82 ± 0,23 a
90	10	3,83 ± 0,14 d
90	20	4,23 ± 0,15 bc
90	30	3,32 ± 0,12 e

Keterangan: 1) Setiap data hasil analisa merupakan rerata dari 3 ulangan ± standar deviasi

2) Angka yang didampinginya notasi berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha = 0,05$)

Pada Tabel 4.5 menunjukkan bahwa total flavonoid tertinggi diperoleh pada perlakuan konsentrasi etanol 85% dan lama ekstraksi 30 menit yaitu sebesar 4,82 ± 0,23 mg QE/g sedangkan nilai total flavonoid terendah diperoleh pada perlakuan konsentrasi etanol 80% dan lama ekstraksi 20 menit yaitu sebesar 2,68 ± 0,09 mg QE/g.

Pengaruh konsentrasi etanol dan lama ekstraksi ultrasonik terhadap total flavonoid hasilnya tidak jauh berbeda dengan pengaruh konsentrasi etanol dan lama ekstraksi ultrasonik terhadap total fenol ekstrak. Hal tersebut disebabkan karena komponen polifenolik yaitu fenol dan flavonoid memiliki korelasi yang kuat (Do *et al.*, 2014). Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol dan semakin lama ekstraksi yang dilakukan maka cenderung meningkatkan nilai total flavonoid pada ekstrak namun pada konsentrasi yang terlalu tinggi, semakin lama waktu ekstraksi cenderung mengalami penurunan nilai total flavonoid pada ekstrak. Menurut Sun *et al.* (2015), ekstraksi flavonoid sebagai salah satu jenis polifenol dengan polaritas yang berbeda akan memberikan hasil yang lebih baik apabila menggunakan pelarut campuran

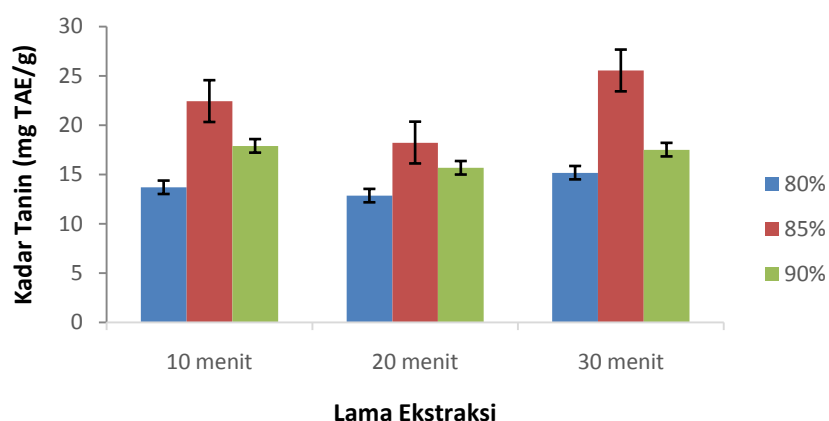
seperti air dan etanol dengan polaritas yang seimbang. Hal tersebut disebabkan karena kemungkinan adanya pembentukan kompleks dari komponen fenolik dengan protein pada sampel yang dapat diatasi dengan penambahan air dalam pelarut yang digunakan sehingga memutus ikatan kompleks yang terbentuk dan memudahkan flavonoid untuk diekstrak. Selain itu menurut Suryani dkk. (2016), senyawa flavonoid terdistribusi luas pada tumbuhan paling banyak dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan suatu gula sehingga flavonoid cenderung bersifat polar. Sedangkan menurut Silva *et al.* (2007), semakin lama proses ekstraksi maka akan meningkatkan rendemen flavonoid karena kontak antara bahan dengan pelarut semakin panjang sehingga memungkinkan senyawa lebih banyak terekstrak. Berdasarkan hal tersebut, diduga interaksi antara konsentrasi etanol dengan lama ekstraksi terjadi akibat campuran antara etanol dengan air akan mempermudah senyawa flavonoid untuk terbebas dari senyawa kompleks yang terikat dengan protein sehingga lebih mudah diekstrak dan semakin lama proses ekstraksi menyebabkan kontak yang semakin lama antara bahan dengan pelarut sehingga komponen flavonoid yang terekstrak akan lebih banyak.

Berdasarkan penelitian oleh Safdar *et al.* (2016), mengenai ekstraksi ultrasonik pada kulit *Citrus reticulata* L. menggunakan pelarut etanol 50%, 80%, dan 100% memberikan hasil senyawa flavonoid hesperidin yang tinggi pada hasil ekstraksi dengan etanol 80% dimana terjadi peningkatan nilai total flavonoid dari ekstrak etanol 50% ke ekstrak 80% dan kemudian terjadi penurunan nilai total flavonoid pada ekstrak etanol 100%. Hal tersebut menunjukkan bahwa jika konsentrasi etanol yang digunakan terlalu tinggi maka akan cenderung menurunkan rendemen total flavonoid pada ekstrak. Pada penelitian yang dilakukan oleh Ghahroudi *et al.*, (2017) pada kulit *Citrus sinensis* cv Shahsavari juga memberikan hasil yang serupa dimana komponen flavonoid yang cenderung mengalami peningkatan seiring meningkatnya konsentrasi etanol dari 0 hingga 65% kemudian terjadi penurunan nilai konsentrasi flavonoid pada ekstrak dengan pelarut etanol murni. Menurut Tan *et al.* (2013), pada senyawa flavonoid yang merupakan komponen bioaktif yang sensitif, waktu ekstraksi yang terlalu lama juga meningkatkan kemungkinan dekomposisi dan oksidasi senyawa flavonoid karena paparan yang lama terhadap faktor lingkungan yang tidak menguntungkan seperti suhu, cahaya dan oksigen. Oleh karena itu pada konsentrasi etanol yang terlalu tinggi mendekati konsentrasi absolut, seperti pada konsentrasi etanol 90%, semakin lama waktu ekstraksi yang digunakan

maka cenderung menurunkan nilai total flavonoid yang didapatkan karena semakin tinggi pula resiko senyawa flavonoid terdekomposisi dan teroksidasi sehingga semakin kecil potensi senyawa flavonoid pada bahan yang dapat terekstrak. Menurut Sun *et al.* (2015), etanol memiliki kemampuan untuk mengekstrak komponen flavonoid dengan kepolaran yang rendah hingga non-polar. Sedangkan air memiliki sifat yang cenderung polar sehingga akan cenderung mengekstrak senyawa yang lebih polar. Oleh karena itu dibutuhkan campuran etanol dan air yang seimbang dan waktu yang tepat untuk mendapatkan hasil flavonoid yang maksimal. Diduga pada kulit jeruk *baby java* ini mengandung lebih banyak senyawa flavonoid yang cenderung lebih polar sehingga konsentrasi etanol yang terlalu tinggi dapat menurunkan komponen flavonoid yang dapat terekstrak.

4.5 Kadar Tanin Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java*

Nilai kadar tanin pada ekstrak kulit jeruk *baby java* metode ultrasonik dengan kombinasi perlakuan konsentrasi etanol dan lama ekstraksi memiliki kisaran rerata antara 12,85 – 25,54 mg TAE/g (Lampiran 6). Rerata nilai kadar tanin ekstrak kulit jeruk *baby java* dengan perlakuan konsentrasi etanol dan lama ekstraksi ultrasonik dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Grafik Rerata Kadar Tanin Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi

Pada Gambar 4.4 menunjukkan kecenderungan perubahan nilai kadar tanin ekstrak akibat pengaruh konsentrasi etanol dan lama ekstraksi. Berdasarkan konsentrasi etanol, pada konsentrasi 85% terjadi peningkatan nilai

kadar tanin dari konsentrasi 80% dan kemudian terjadi penurunan nilai kadar tanin pada konsentrasi 90% sedangkan berdasarkan lama ekstraksi terjadi penurunan nilai kadar tanin pada lama ekstraksi ultrasonik 20 menit dan kemudian mengalami peningkatan pada lama ekstraksi ultrasonik 30 menit.

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa faktor konsentrasi etanol dan lama ekstraksi berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap nilai kadar tanin ekstrak namun tidak terdapat interaksi ($\alpha=0,05$) antara faktor konsentrasi etanol dan lama ekstraksi pada parameter kadar tanin. Uji lanjut dengan *Tukey Simultaneous* 95% dilakukan pada masing-masing faktor yaitu konsentrasi etanol dan lama ekstraksi untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan. Hasil uji lanjut *Tukey Simultaneous* 95% parameter kadar tanin pada faktor konsentrasi etanol dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Rerata Nilai Kadar Tanin Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* Metode Ultrasonik Akibat Perlakuan Konsentrasi Etanol

Konsentrasi Etanol (%)	Kadar Tanin (mg TAE/g)
80	13,91 \pm 1,18 c
85	22,07 \pm 3,67 a
90	17,03 \pm 1,19 b

Keterangan: 1) Setiap data hasil analisa merupakan rerata dari 3 ulangan \pm standar deviasi

2) Angka yang didampingi notasi berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha = 0,05$)

Pada Tabel 4.6 menunjukkan bahwa kadar tanin tertinggi diperoleh pada perlakuan konsentrasi etanol 85% yaitu sebesar 22,07 \pm 3,67 mg TAE/g sedangkan nilai kadar tanin terendah diperoleh pada perlakuan konsentrasi etanol 80% yaitu sebesar 13,91 \pm 1,18 mg TAE/g. Dapat dilihat pada tabel bahwa konsentrasi etanol 85% memberikan nilai kadar tanin lebih besar dibandingkan dengan kedua konsentrasi lainnya. Menurut Baldosano *et al.* (2015), tanin merupakan salah satu senyawa yang larut dalam air namun ekstraksi dengan air bukan merupakan ekstraksi yang efektif untuk ekstraksi tanin. Hal tersebut dikarenakan formasi yang kompleks antara tanin dan protein. Etanol memberikan hasil yang efektif dalam ekstraksi tanin karena merupakan salah satu pelarut organik. Polaritas dari etanol membuat kemampuan interaksi yang kuat dengan komponen yang polar seperti tanin sehingga kombinasi antara air dan etanol memungkinkan memberikan hasil yang lebih baik pada ekstraksi tanin. Penggunaan pelarut campuran akan lebih mudah memutus ikatan antara tanin dengan protein sehingga tanin pada bahan akan lebih mudah terekstrak.

Hasil uji lanjut *Tukey Simultaneous* 95% parameter kadar tanin pada faktor lama ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Rerata Nilai Kadar Tanin Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* Metode Ultrasonik Akibat Perlakuan Lama Ekstraksi

Lama Ekstraksi (menit)	Kadar Tanin (mg TAE/g)
10	18,01 ± 4,37 a
20	15,58 ± 2,69 b
30	19,41 ± 5,43 a

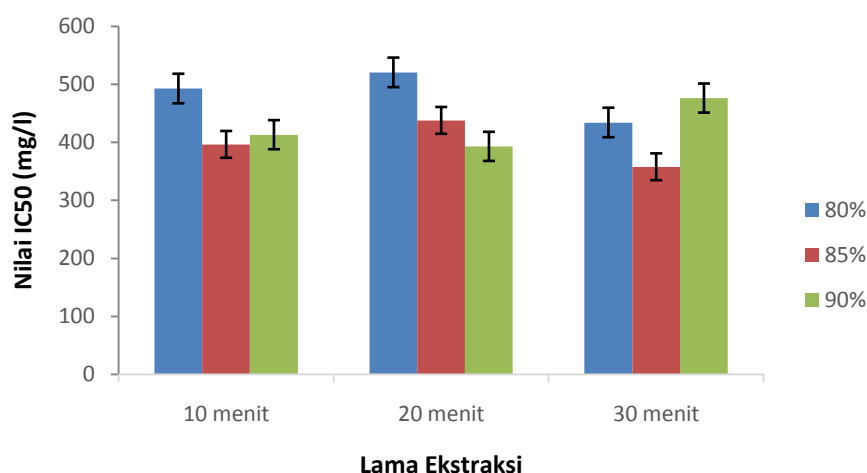
Keterangan: 1) Setiap data hasil analisa merupakan rerata dari 3 ulangan ± standar deviasi

2) Angka yang didampingi notasi berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha = 0,05$)

Pada Tabel 4.7 menunjukkan bahwa nilai rerata kadar tanin tertinggi diperoleh pada perlakuan lama ekstraksi 30 menit yaitu sebesar 19,41 ± 5,43 mg TAE/g sedangkan nilai rerata kadar tanin terendah diperoleh pada perlakuan lama ekstraksi 20 menit yaitu sebesar 15,58 ± 2,69 mg TAE/g. Dari hasil tersebut menunjukkan terjadi penurunan nilai kadar tanin pada lama ekstraksi 20 menit kemudian meningkat kembali pada lama ekstraksi 30 menit. Menurut Baldosano *et al.* (2015) dan Tan *et al.* (2013), semakin lama waktu ekstraksi yang digunakan pada umumnya menyebabkan presentase kadar tanin semakin tinggi. Hal tersebut disebabkan karena terdapat waktu yang cukup lama untuk terjadinya kontak antara zat terlarut dengan zat pelarut saat ekstraksi berlangsung. Waktu kontak yang lama akan memberikan massa transfer yang lebih pada sistem. Namun, waktu ekstraksi yang berlebihan tidak diperlukan karena pelarut dan sampel dapat berada pada kesetimbangan akhir pada waktu ekstraksi tertentu. Pada saat itu maka tingkat ekstraksi senyawa akan berkurang.

4.6 Aktivitas Antioksidan (IC₅₀) Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java*

Nilai IC₅₀ pada ekstrak kulit jeruk *baby java* metode ultrasonik dengan kombinasi perlakuan konsentrasi etanol dan lama ekstraksi memiliki kisaran rerata antara 357,70 – 520,44 mg/l (Lampiran 7). Rerata nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk *baby java* dengan perlakuan konsentrasi etanol dan lama ekstraksi ultrasonik dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Grafik Rerata Nilai IC_{50} Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi

Pada Gambar 4.5 menunjukkan kecenderungan perubahan nilai IC_{50} ekstrak akibat pengaruh konsentrasi etanol dan lama ekstraksi. Berdasarkan konsentrasi etanol, pada konsentrasi 85% terjadi penurunan nilai IC_{50} dari konsentrasi 80% dan kemudian terjadi peningkatan nilai IC_{50} pada konsentrasi 90%. Perbedaan terjadi pada lama ekstraksi 20 menit dimana terjadi penurunan nilai IC_{50} dari konsentrasi etanol 80% hingga 90%.

Jika berdasarkan lama ekstraksi, terjadi peningkatan nilai IC_{50} pada lama ekstraksi ultrasonik 20 menit dan kemudian mengalami penurunan pada lama ekstraksi ultrasonik 30 menit. Perbedaan terjadi pada konsentrasi 90% dimana pada lama ekstraksi 20 menit terjadi penurunan nilai IC_{50} kemudian mengalami peningkatan nilai IC_{50} pada lama ekstraksi 30 menit.

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa faktor konsentrasi etanol dan lama ekstraksi berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap nilai IC_{50} ekstrak. Hasil analisa ragam juga menunjukkan adanya interaksi antara faktor konsentrasi etanol dengan lama waktu ekstraksi terhadap nilai total IC_{50} ekstrak. Uji lanjut dengan *Tukey Simultaneous* 95% dilakukan pada interaksi konsentrasi etanol dan lama ekstraksi untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan. Rerata nilai IC_{50} ekstrak kulit jeruk *baby java* akibat interaksi konsentrasi etanol dan lama ekstraksi disajikan pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Rerata Nilai IC_{50} Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* Metode Ultrasonik dengan Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Etanol dan Lama Ekstraksi

Konsentrasi Etanol (%)	Lama Ekstraksi (menit)	Nilai IC_{50} (mg/l)
80	10	492,65 \pm 4,54 b
80	20	520,44 \pm 11,12 a
80	30	434,06 \pm 7,79 c
85	10	396,31 \pm 3,47 d
85	20	437,72 \pm 4,19 c
85	30	357,70 \pm 7,21 e
90	10	413,00 \pm 8,44 cd
90	20	392,86 \pm 9,43 d
90	30	476,15 \pm 22,62 b

Keterangan: 1) Setiap data hasil analisa merupakan rerata dari 3 ulangan \pm standar deviasi

2) Angka yang didampingi notasi berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha = 0,05$)

Pada Tabel 4.8 menunjukkan bahwa nilai IC_{50} tertinggi diperoleh pada perlakuan konsentrasi etanol 80% dan lama ekstraksi 20 menit yaitu sebesar 520,44 \pm 11,12 mg/l sedangkan nilai IC_{50} terendah diperoleh pada perlakuan konsentrasi etanol 85% dan lama ekstraksi 30 menit yaitu sebesar 357,70 \pm 7,21 mg/l.

Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol dan semakin lama ekstraksi yang dilakukan maka cenderung menurunkan nilai IC_{50} pada ekstrak namun pada konsentrasi yang terlalu tinggi, semakin lama waktu ekstraksi cenderung mengalami peningkatan nilai IC_{50} pada ekstrak. Menurut Lagourli *et al.* (2010), ekstraksi menggunakan pelarut dengan tingkat polaritas yang berbeda menghasilkan ekstrak dengan konstituen antioksidan yang berbeda sehingga menunjukkan reaktifitas DPPH yang bervariasi. Kulit jeruk manis mengandung komponen fenolik polar dan non polar (Anagnostopoulou *et al.*, 2005; Zefang *et al.*, 2016) sehingga membuat proses ekstraksi komponen fenolik yang lebih efisien dengan menggunakan pelarut air-etanol yang menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan sistem *monosolvent* (satu jenis pelarut) (Waszkowiak and Gliszczynska-Świgło, 2016). Sedangkan menurut Wahyuni (2015), semakin lama waktu ekstraksi maka semakin banyak pula komponen fenolik dan komponen-komponen lain yang dapat terekstrak sehingga nilai IC_{50} yang dihasilkan akan semakin turun yang menandakan kenaikan aktivitas antioksidan. Hal tersebut dikarenakan semakin lama waktu ekstraksi maka terjadi kontak antara pelarut dengan bahan yang semakin lama sehingga antara pelarut dan bahan akan

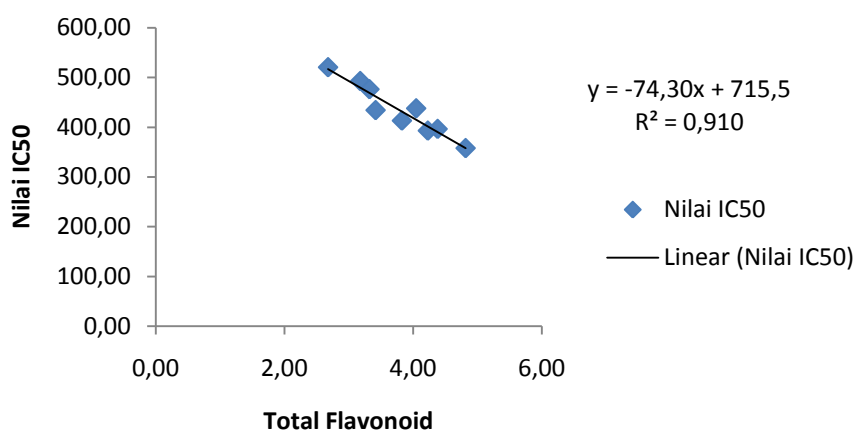
terjadi pengendapan massa secara difusi sampai terjadi keseimbangan konsentrasi larutan di dalam dan diluar bahan ekstraksi. Pada titik waktu tertentu, proses ekstraksi akan mengalami penurunan sehingga mempengaruhi jumlah senyawa fenolik yang terekstrak. Berdasarkan hal tersebut diduga interaksi antara konsentrasi etanol dengan lama ekstraksi terjadi akibat penggunaan pelarut campuran etanol-air yang lebih tinggi dapat membantu meningkatkan komponen fenolik yang terekstrak, dibantu dengan lamanya waktu ekstraksi yang sesuai dimana semakin lama waktu ekstraksi akan semakin membantu kontak antara pelarut dengan bahan sehingga komponen fenolik dan komponen lain yang memiliki sifat antioksidan khususnya yang bersifat polar akan lebih banyak terekstrak dari bahan dan menghasilkan nilai IC_{50} yang semakin rendah yang berarti aktivitas antioksidan yang semakin tinggi. Aktivitas antioksidan suatu ekstrak tanaman sebagian besar ditentukan oleh kondisi dan komposisi ekstraksi. Senyawa fenolik seperti flavonoid pada dasarnya memiliki sifat antioksidan sehingga aktivitas antioksidan memiliki korelasi yang kuat dengan senyawa fenolik. Selain senyawa fenolik, kulit jeruk juga mengandung beberapa senyawa seperti saponin, alkaloid, antosianin, asam askorbat dan senyawa-senyawa lainnya yang juga dapat memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk (Al-Saadi *et al.*, 2009; Omoba *et al.*, 2015; M'hiri *et al.*, 2016).

Berdasarkan penelitian Ghahroudi *et al.* (2017), menunjukkan hasil nilai IC_{50} yang rendah atau aktivitas antioksidan yang tinggi pada ekstrak kulit jeruk manis yang diekstrak menggunakan campuran pelarut yaitu 35% air dan 65% etanol, dibandingkan dengan yang hanya menggunakan pelarut air, etanol, dan campuran 65% air dengan 35% etanol. Hal tersebut menunjukkan bahwa jika konsentrasi yang digunakan untuk ekstraksi terlalu tinggi atau mendekati absolut, seperti yang terjadi pada konsentrasi 90%, maka semakin lama waktu ekstraksi akan semakin meningkatkan nilai IC_{50} ekstrak dikarenakan komponen yang berpengaruh pada sifat antioksidan ekstrak seperti komponen fenolik tidak dapat terekstrak dengan maksimal. Pada ekstrak yang tidak murni, komponen polifenol masih banyak yang terikat dengan protein dan juga seperti komponen flavonoid yang masih banyak terikat dengan gugus glikosida (Wissam *et.al.*, 2012; Safdar *et.al.*, 2016; Ridho, 2013) sehingga konsentrasi etanol yang mendekati absolut memiliki kemampuan yang lebih sedikit untuk memutus ikatan kompleks sehingga dengan waktu yang lebih lama cenderung tidak dapat memaksimalkan

komponen yang dapat terekstrak dan dapat meningkatkan nilai IC_{50} yang berarti menurunkan aktivitas antioksidan pada ekstrak akibat tercapainya titik keseimbangan lebih cepat.

4.6.1 Korelasi Aktivitas Antioksidan (IC_{50}) dengan Flavonoid

Nilai aktivitas antioksidan IC_{50} memiliki hubungan yang kuat dengan total senyawa flavonoid sebagai senyawa bioaktif yang memiliki sifat antioksidan. Grafik hubungan antara rerata nilai IC_{50} dengan total flavonoid ekstrak dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Grafik Korelasi Rerata Nilai IC_{50} dengan Rerata Nilai Total Flavonoid Ekstrak

Berdasarkan Gambar 4.6 diatas, persamaan linier yang didapatkan dari korelasi antara rerata nilai IC_{50} dengan total flavonoid adalah $y = -74,30x + 719,5$ dengan regresi $R^2=0,910$. Hal ini menunjukkan bahwa dari persamaan koefisien determinan dapat diartikan total flavonoid mempengaruhi nilai IC_{50} sebesar 91% dimana semakin besar nilai total flavonoid maka nilai IC_{50} semakin menurun atau berkorelasi negatif, dilihat dari angka bernilai negatif yang mengikuti koefisien x pada persamaan linier. Sedangkan sisanya yaitu 9% dipengaruhi oleh faktor lain yaitu komponen-komponen lain yang terkandung pada ekstrak kulit jeruk yang juga memiliki kemampuan antioksidan seperti antosianin, karotenoid, alkaloid, saponin dan asam askorbat (Al-Saadi *et al.*, 2009; Omoba *et al.*, 2015; M'hiri *et al.*, 2016). Nilai IC_{50} yang rendah menunjukkan kemampuan menghambat radikal bebas yang kuat (Lagha-Benamrouche and Madani, 2013), sehingga persamaan tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai total flavonoid maka aktivitas

antioksidan akan semakin tinggi. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa flavonoid pada ekstrak kulit jeruk *baby java* berperan signifikan terhadap mekanisme antioksidan terhadap radikal DPPH. Polifenol merupakan antioksidan utama dalam makanan manusia karena kemampuannya melindungi konstituen sel terhadap kerusakan oksidatif. Kulit jeruk sendiri kaya akan sumber komponen fenolik yang memiliki efek antioksidan (Sawalha *et.al.*, 2009; Kanmaz and Saral, 2017). Aktivitas antioksidan umumnya berhubungan dengan komponen fenolik pada tanaman karena sifat redoksnya, yang membantu komponen fenolik bertindak sebagai donor hidrogen, peredam *singlet oxygen*, dan agen pereduksi (Chang *et al.*, 2001). Flavonoid merupakan jenis komponen fenolik atau senyawa bioaktif yang memiliki sifat aktivitas antioksidan, kemampuan menangkal spesies oksigen aktif, kemampuan mengkelat metal (seperti Fe dan Cu), menekan enzim yang terkait dengan pembentukan radikal bebas, dan stimulasi enzim antioksidan internal (Fennema *et al.*, 2008; Procházková *et al.*, 2011). Kulit jeruk sendiri kaya akan komponen flavonoid seperti narirutin dan hesperidin yang memiliki efek antioksidan (M'hiri *et al.*, 2015) sehingga memiliki hubungan yang positif dengan aktivitas antioksidan suatu ekstrak.

4.7 Perlakuan Terbaik

Pemilihan perlakuan terbaik pada proses ekstraksi bubuk kulit jeruk *baby java* menggunakan metode ultrasonik dengan perlakuan konsentrasi etanol dan lama waktu ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode *Multiple Attribute* (Zeleny, 1982). Perlakuan terbaik ditentukan melalui pembobotan sesuai nilai ideal dari masing-masing parameter yang diuji. Metode ini digunakan untuk mencari alternatif optimal dari sejumlah alternatif dengan kriteria tertentu. Intinya adalah menentukan nilai bobot untuk setiap atribut, kemudian dilanjutkan dengan proses perankingan yang akan menyeleksi alternatif yang sudah diberikan (Kusumadewi, 2005). Terdapat lima parameter yang digunakan dalam pemilihan perlakuan terbaik yaitu parameter rendemen, total fenol, total flavonoid, kadar tanin, dan nilai IC_{50} . Nilai pengharapan yang terbaik dari masing-masing parameter untuk mendapatkan perlakuan terbaik dapat dilihat pada Tabel 4.9.

Tabel 4.9. Pemilihan Parameter Berdasarkan Faktor Kepentingan dan Pengharapan

Parameter	Nilai Pengharapan
Rendemen	Nilai Tertinggi
Total Fenol	Nilai Tertinggi
Total Flavonoid	Nilai Tertinggi
Kadar Tanin	Nilai Tertinggi
Aktivitas Antioksidan IC ₅₀	Nilai Terendah

Berdasarkan hasil pembobotan nilai perlakuan terbaik terhadap tiap parameter (lampiran 8), diperoleh hasil perlakuan terbaik untuk proses ekstraksi kulit jeruk *baby java* menggunakan metode ultrasonik yaitu pada faktor konsentrasi etanol 85% dengan lama waktu ekstraksi 30 menit. Hal tersebut ditentukan berdasarkan dari jumlah perhitungan nilai L1, L2, dan L maksimum pada tiap perlakuan yang paling rendah. Karakteristik fisik, senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan pada hasil ekstraksi perlakuan terbaik disajikan pada Tabel 4.10.

Tabel 4.10. Karakteristik Fisik dan Senyawa Bioaktif Pada Konsentrasi Etanol 85% dan Lama Ekstraksi 30 Menit

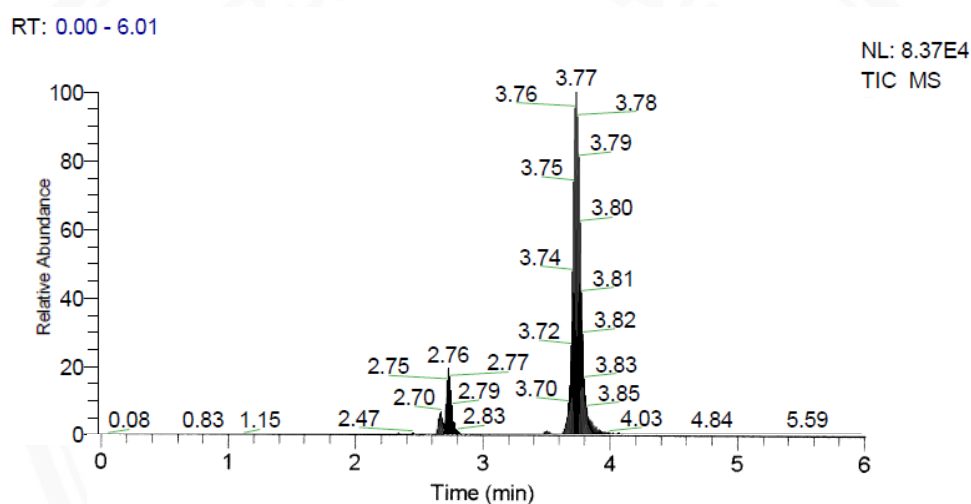
Parameter	Ekstrak Kulit Jeruk <i>baby java</i>
Rendemen (% bb)	23,18 ± 1,89
Total Fenol (mg GAE/g)	4,94 ± 0,30
Total Flavonoid (mg QE/g)	4,82 ± 0,23
Kadar Tanin (mg TAE/g)	25,54 ± 1,22
Aktivitas Antioksidan IC ₅₀ (mg/l)	357,70 ± 7,20

Keterangan: 1) Setiap data hasil analisa merupakan rerata dari 3 ulangan ± standar deviasi

Jika dibandingkan dengan hasil ekstraksi dengan metode sejenis pada kulit jeruk jenis lain, komponen bioaktif pada kulit jeruk *baby java* termasuk sebagai sumber yang potensial. Pada penelitian Rasfanjani (2014) yang menggunakan etanol 96% dan waktu 30 menit pada kulit jeruk bali, hasil yang didapatkan yaitu total fenol 2,82 mg GAE/g dan kadar tanin 14,59 mg TAE/g, lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil perlakuan terbaik pada ekstrak kulit jeruk *baby java*. Pada penelitian yang dilakukan oleh Safdar *et al.* (2016) yang menggunakan etanol 80% dan waktu 60 menit pada kulit *Citrus reticulata* L., hasil yang didapatkan yaitu rendemen ekstrak 19,24%, lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil perlakuan terbaik pada ekstrak kulit jeruk *baby java*, serta total polifenol sekitar 29 mg GAE/g, lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil perlakuan terbaik pada ekstrak kulit jeruk *baby java*.

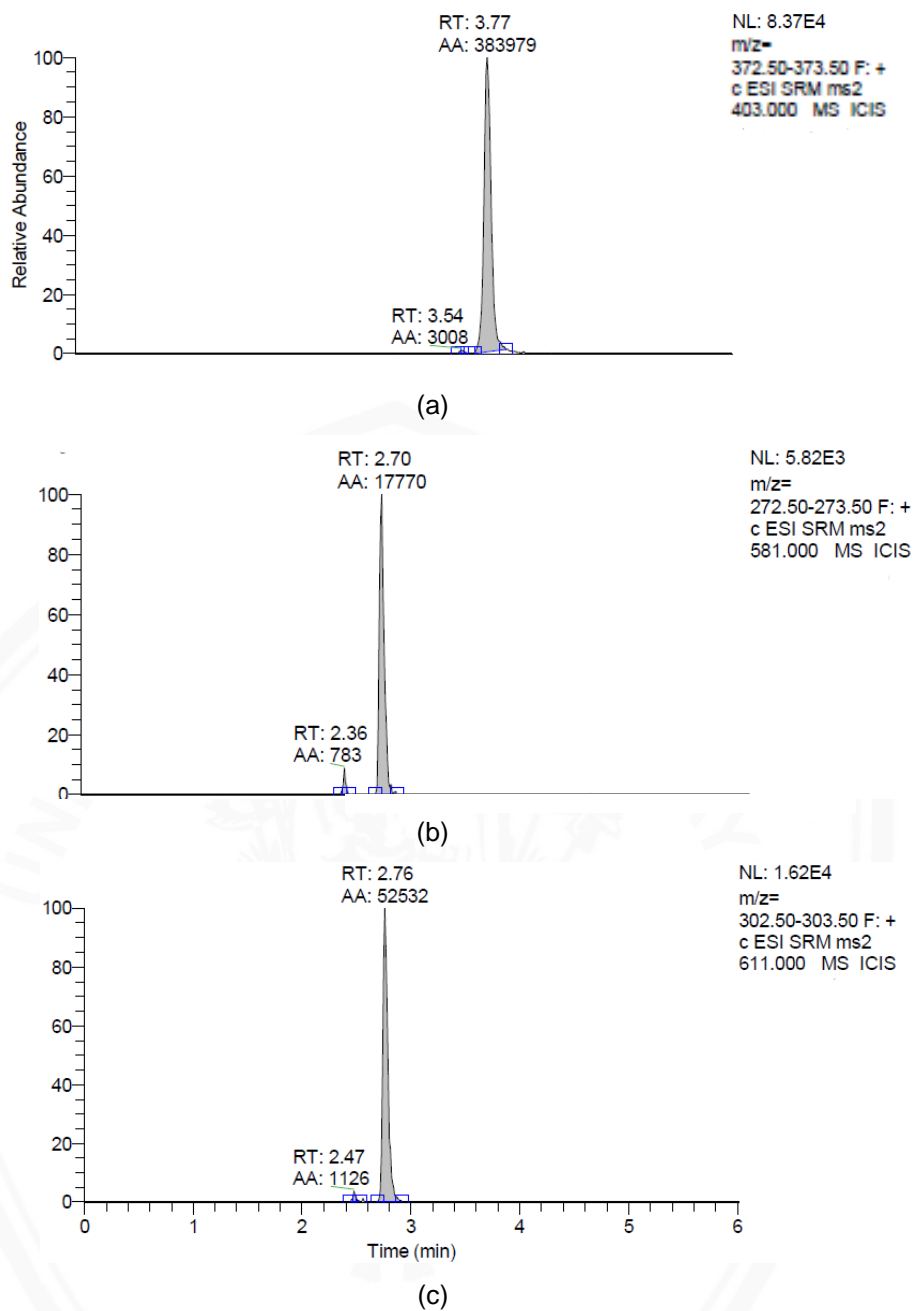
Hasil perlakuan terbaik kemudian diidentifikasi senyawa golongan flavonoid dengan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometric* (LC-MS) untuk mengetahui luas area dari jenis senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit jeruk *baby java*. Pada identifikasi dengan LC-MS, dipilih 3 golongan flavonoid yang dijadikan target yaitu nobiletin, hesperidin dan narirutin. Nobiletin memiliki berat molekul 402,399 g/mol dengan nilai m/z 373, hesperidin memiliki berat molekul 610,565 g/mol dengan nilai m/z 303, sedangkan narirutin memiliki berat molekul 580,539 g/mol dengan nilai m/z 273. Nilai m/z merupakan rasio massa terhadap muatan molekul yang didapatkan berdasarkan berat molekul dan muatan pada molekul senyawa tertentu.

Hasil kromatogram dari analisa menggunakan LC-MS pada ekstrak kulit jeruk menggunakan ekstraksi ultrasonik perlakuan terbaik dapat dilihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Kromatogram Hasil LC-MS Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* Metode Ultrasonik Perlakuan Terbaik

Berdasarkan Gambar 4.8, terdapat 3 *peak* utama yang terlihat jelas sesuai dengan jumlah senyawa target. Ketiga *peak* tersebut muncul pada menit 2,70, menit 2,76 dan menit 3,77. Dari ketiga *peak* tersebut kemudian diidentifikasi masing-masing berdasarkan nilai m/z dari masing-masing senyawa target. Hasil kromatogram masing-masing *peak* berdasarkan nilai m/z dapat dilihat pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Hasil Kromatogram pada senyawa: (a) Nobiletin, (b) Narirutin, (c) Hesperidin

Berdasarkan Gambar 4.8, merupakan hasil kromatogram MS/MS pada tiap senyawa target dengan ionisasi mode positif. Pada poin (a) merupakan *peak* pada menit 3,77 yang dianalisa pada m/z 372,50-373,50 sehingga diidentifikasi sebagai senyawa nobiletin dengan berat molekul 403, pada poin (b) merupakan *peak* pada menit 2,70 yang dianalisa pada m/z 272,50-273,50 sehingga diidentifikasi sebagai senyawa narirutin dengan berat molekul 581, sedangkan pada poin (c) merupakan *peak* pada menit 2,76 yang dianalisa pada m/z 302,50-

303,50 sehingga diidentifikasi sebagai senyawa hesperidin dengan berat molekul 611. Hasil kromatogram tersebut masing-masing memiliki luas area berdasarkan ukuran *peak* yang muncul. Hasil identifikasi luas area dari tiga golongan flavonoid pada ekstrak kulit jeruk *baby java* perlakuan terbaik menggunakan LC-MS dapat dilihat pada Tabel 4.11.

Tabel 4.11. Luas Area Komponen Flavonoid dari Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* dengan Metode Ultrasonik Perlakuan Terbaik

Komponen Flavonoid	Luas Area (area/mg ekstrak)
Nobiletin	702,17 ± 14,78
Narirutin	32,71 ± 0,52
Hesperidin	92,03 ± 5,94

Keterangan: 1) Setiap data hasil analisa merupakan rerata dari 3 ulangan ± standar deviasi

Berdasarkan Tabel 4.11, dari tiga golongan flavonoid, yang memiliki luas area paling besar pada ekstrak kulit jeruk *baby java* dengan ekstraksi ultrasonik perlakuan terbaik adalah golongan nobiletin yaitu sebesar 702,17 ± 14,78 area/mg ekstrak, diikuti golongan hesperidin dengan 92,03 ± 5,94 area/mg ekstrak dan yang terkecil yaitu golongan narirutin dengan 32,71 ± 0,52 area/mg ekstrak. Nobiletin, narirutin dan hesperidin merupakan jenis flavonoid yang paling sering ditemukan pada kulit jeruk. Menurut M'hiri *et al.* (2017), flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit jeruk manis secara umum termasuk dalam *glycosylated flavanones* dan *polymethoxylated flavones*. Narirutin dan hesperidin termasuk dalam *glycosylated flavanone* sedangkan nobiletin termasuk dalam *polymethoxylated flavone*.

V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi interaksi antara faktor perlakuan konsentrasi etanol dan lama ekstraksi pada ekstraksi kulit jeruk *baby java* menggunakan metode ultrasonik terhadap parameter total fenol, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan IC_{50} . Kedua faktor perlakuan berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap semua parameter uji kecuali faktor lama waktu ekstraksi yang tidak berpengaruh nyata pada parameter total fenol. Perlakuan terbaik didapatkan pada ekstraksi ultrasonik menggunakan konsentrasi etanol 85% dengan lama ekstraksi 30 menit dengan karakteristik rendemen sebesar $23,18 \pm 1,89$ %bb, total fenol sebesar $4,94 \pm 0,30$ mg GAE/g, total flavonoid sebesar $4,82 \pm 0,23$ mg QE/g, kadar tanin sebesar $25,54 \pm 1,22$ mg TAE/g, dan aktivitas antioksidan IC_{50} sebesar $357,70 \pm 7,20$ mg/l.

5.2 Saran

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekstraksi kulit jeruk *baby java* menggunakan metode ultrasonik dengan rentang waktu ekstraksi yang lebih lama dan rentang konsentrasi etanol yang lebih luas
- Perlu dilakukan penelitian mengenai pemanfaatan ekstrak kulit jeruk *baby java* yang diaplikasikan kedalam produk pangan atau pembuatan suplemen makanan
- Perlu dilakukan identifikasi lebih lengkap mengenai komponen bioaktif ekstrak kulit jeruk *baby java*

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2007. **Teknologi Bahan Alam**. Bandung: ITB Press
- Al-Saadi, NHM., Ahmad, NS, Sa'eed, SE. 2009. **Determination of Some Chemical Compounds and The Effect of Oil Extract From Orange Peel on Some Pathogens**. *Journal of Kerbala University*. 7(2): 33-39
- Amiarsi, D., Sabari, SD., Yulianingsih. 2006. **Pengaruh Jenis dan Perbandingan Pelarut Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Atsiri Mawar**. *Jurnal Hortikultura*. 16(1): 356-359
- Anagnostopoulou, MA., Kefalas, P., Kokkalou, E., Asslmopoulou, AN., Papageorglou, VP. 2005. **Analysis of Antioxidant Compounds in Sweet Orange Peel by HPLC-diode Array Detection-electrospray Ionization Mass Spectrometry**. *Biomedical Chromatography*. 19:138-148
- AOAC. 1984. **Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists 14th edition**. Arlington
- AOAC. 1995. **Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemists**. Washington D.C
- AOAC. 1996. **Official Methods of Analysis of AOAC International 16th ed Vol II**. Washington D.C
- Arora, M., and Kaur, P. 2013. **Phytochemical Screening of Orange Peel and Pulp**. *International Journal of Research in Engineering and Technology*. 02(12): 517-522
- Ashari, A. 2013. **Uji Inhibisi Korosi Pada Baja Lunak Menggunakan Ekstrak Senyawa Tanin Dari Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L) Dalam Larutan Garam**. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung. Lampung
- Astawan, M., Kasih, AL. 2008. **Khasiat Warna-Warni Makanan**. Jakarta: Gramedia
- Aziz, MF. 2010. **Distribusi Beberapa Jenis Kutu Sisik Pada Perkebunan Jeruk Manis (*Citrus sinensis*)**. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang
- Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro). 2012. **Nikmati Segarnya Jus Jeruk Manis Pacitan**.

- (<http://balitjestro.litbang.pertanian.go.id/nikmati-segarnya-jus-jeruk-manis-pacitan/>, diakses tanggal 03 oktober 2017 pukul 14.39 WIB)
- Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro). 2015. **Melihat Potensi Bukit Jeruk di Malang**. (<http://balitjestro.litbang.pertanian.go.id/melihat-potensi-bukit-jeruk-di-malang/>, diakses tanggal 06 oktober 2017 pukul 08.31 WIB)
- Baldosano, HY., Castillo, MBMG., Elloran, CDH., Bacani, FT. 2015. **Effect of Particle Size, Solvent and Extraction Time on Tannin Extract from *Spondias purpurea* Bark Through Soxhlet Extraction**. *Proceedings of the DLSU Research Congress*. 3:1-6
- Bampidis, VA., and Robinson, PH. 2006. **Citrus By-products as Ruminant Feeds: A Review**. *Animal Feed Science Technology*. 128: 175-217
- Barros, HRM., Ferreira, TAPC., Genovese, MI. 2012. **Antioxidant Capacity and Mineral Content of Pulp and Peel from Commercial Cultivars of Citrus from Brazil**. *Food Chemistry*. 134:1892-1898
- Berim, A and Gang, DR. 2015. **Methoxylated Flavones: Occurrence, Importance, Biosynthesis**. *Phytochemistry Reviews*. 15(3): 363-390
- Blainski, A., Lopes, GC., Mello, JCP. 2013. **Application and Analysis of The Folin Ciocalteu Method for The Determination of The Total Phenolic Content from *Limonium brasiliense* L.** *Molecules*. 18: 6852-6865
- Brennan, JG. 2006. **Food Processing Handbook**. Weinheim: Wiley-VCH
- Cahyono, B. 2005. **Budidaya Jeruk Mandarin**. Yogyakarta: Yayasan Pustaka Nusantara
- Chang, SKC., and Xu, BJ. 2007. **Comparative Analysis of Phenolic Composition, Antioxidant Capacity, and Color of Cool Season Legumes and Other Selected Food Legumes**. *Journal of Food Science*: 72(2): S167
- Chang, ST., Wu, JH., Wang, SY., Kang, PL., Yang, NS., Shyur, IF. 2001. **Antioxidant Activity of Extracts from *Acacia confusa* Bark and Heartwood**. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 49: 3420-3424
- Chen, ZT., Chu, HL., Chyau, CC., Chu, CC., Duh, PD. 2012. **Protective Effects of Sweet Orange (*Citrus sinensis*) Peel and Their Bioactive compounds on Oxidative Stress**. *Journal Fod Chemistry*. 135: 2119-2127

- Da-porto, C., and Decorti, D. 2009. **Ultrasound-assisted Extraction Coupled with Under Vacuum Distillation of Flavour Compounds from Spearmint (Carvone-rich) Plants: Comparison with Conventional Hydrodistillation.** *Ultrasonics Sonochemistry*. 16: 795-799
- Dheer, R., and Bhatnagar, P. 2010. **A Study of The Antidiabetic Activity of Barleria prionitis Linn.** *Indian Journal of Pharmacology*. 42(2): 70-73
- Do, QD., Angkawijaya, AE., Tran-Nguyen, PL., Huynh, LH., Soetaredjo, FE., Ismadji, S., Ju, Y. 2014. **Effect of Extraction Solvent on Total Phenol Content, Total Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of *Limnophila aromatica*.** *Journal of Food and Drug Analysis*. 22: 296-302
- El-aal, HAA., and Halaweish, FT. 2010. **Food Preservative Activity of Phenolic Compounds in Orange Peel Extracts (*Citrus sinensis* L.).** *Lucrări Ştiinţifice*. 53: 457-464
- Etebu, E., and Nwauzoma, AB. 2014. **A Review on Sweet Orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck): Health, Diseases and Management.** *American Journal of Research Communication*. 2(2): 33-70
- Ezeabara, CA., Okeke, CU., Ilodibia, CV., Aziagba BO. 2014. **Determination of Tannin Content in Various Parts of Six *Citrus* Species.** *Journal of Scientific Research & Reports*. 3(10): 1384-1392
- Ezekiel, A., Jonathan, J., Fadaka, AO., Adewumi, DF. 2014. **Phytochemical Constituents and Proximate Analysis of Orange Peel (*Citrus Fruit*).** *Journal of Advanced Botany and Zoology*. 1(3): 1-2
- Fejzić, A., and Cavar, S. 2014. **Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Some Citruses.** *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina 2014*. 42: 1-4
- Fennema, OR., Damodaran, S., Parkin, KL. 2008. **Fennema's Food Chemistry Fourth Edition.** New York: CRC Press
- Franke, AA., Custer, LJ., Arakaki, C., Murphy, SP. 2004. **Vitamin C and Flavonoid Levels of Fruits and Vegetables Consumed in Hawaii.** *Journal of Food Composition and Analysis*. 17: 1-35
- Friatna, ER., Rizqi A., Hidayah, T. 2011. **Uji Aktivitas Antioksidan Pada Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) Sebagai Alternatif Bahan Pembuatan Masker Wajah.** *Jurnal Penelitian Mahasiswa UNY*. 4(2): 1-10
- Fuadi, A. 2012. **Ultrasonik Sebagai Alat Bantu Ekstraksi Oleoresin Jahe.** *Jurnal Teknologi*. 12(1): 14-21

- Garcia, JLL., and Castro, MDL. 2004. **Ultrasound-assisted Soxhlet Extraction: An Expeditive Approach for Solid Sample Treatment, Application to The Extraction of Total Fat From Oleaginous Seeds.** *Journal of Chromatography*. Ed. 1034: 237-242
- Ghahroudi, FR., Mizani, M., Rezaei, K., Moghadam, MB. 2017. **Production of A Safe and Efficient Antioxidant-Rich Extract from Sweet Orange (*Citrus sinensis* cv Shahsavari) Peel.** *Journal of Food Biosciences and Technology*. 7(2): 49-56
- Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ebrahimzadeh, MA. 2009. **Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of 13 Citrus Species Peels and Tissues.** *Journal Pharmacy Science*. 22(3): 277-281
- Gogate, PR., Tayal, RK., Pandit, AB. 2006. **Cavitation: A Technology on The Horizon.** *Current Science*. 91(1)
- Gordon, MHJ., Pokorny, N., Yanishlieve, M. 2001. **Antioxidants in Food.** New York: CRC Press
- Gotmare, S., and Gade, J. 2018. **Orange Peel: A Potential Source of Phytochemical Compounds.** *International Journal of ChemTech Research*. 11(02): 240-243
- Hamamah, F., dan Trihadiningrum, Y. 2008. **Penyisihan Fenol Pada Limbah Industri Dari PT XYZ Dengan Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*).** *Prosiding Seminar Nasional Manajemen Teknologi VII*, Program Studi MMT-ITS, Surabaya.
- Hambali, E., Mujdalipah, S., Tambunan, AH., Pattiwiri, AW., Hendroko, R. 2008. **Teknologi Bioenergi.** Jakarta: Agro Media
- Handayani, S., Sunarto., Kristianingrum, S. 2005. **Kromatografi Lapis Tipis Untuk Penentuan Kadar Hesperidin Dalam Kulit Buah Jeruk.** *Jurnal Penelitian Saintek*. 10(1): 53-68
- Harmita. 2004. **Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya.** *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(3): 117-135
- Hayu, TR., Murrukmiyadi, M., dan Mutmainah. 2013. **Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) Dalam Pasta Gigi Terhadap Karakteristik Fisik dan Daya Antibakteri *Streptococcus mutans*.** *Fermausetik*. 9(1): 243-247

- Hidayat. 2012. **Distilasi Minyak Atsiri Dari Kulit Jeruk Pontianak dan Pemanfaatannya Dalam Pembuatan Sabun Aromaterapi**. Biopropal Industri. 3(2): 39-49
- Hossain, MA., and Shah, MD. 2011. **A Study on The Total Phenols Content and Antioxidant Activity of Essential Oil and Different Solvent Extracts of Endemic Plant *Merremia borneensis***. *Arabian Journal of Chemistry*. 1-6
- Ismarani. 2012. **Potensi Senyawa Tannin Dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan**. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah*. 3(2): 46-55
- Kanmaz, EÖ., and Saral, Ö. 2017. **The Relationship Between Antioxidant and Phenolic Compounds in Subcritical Water Extracts from Orange Peel**. *GIDA The Journal of Food*. 42(5): 485-493
- Kawatu, C., Bodhi, W., Mongi, J. 2013. **Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Kucing-Kucingan (*Acalypha indica* L.) Terhadap Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus*)**. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(1): 81-87
- Keil, FJ. 2007. **Modeling of Process Intensification**. Weinheim: Wiley-VCH
- Kementerian Pertanian RI. 2016. **Outlook Komoditas Pertanian Sub Sektor Hortikultura: Jeruk**. Jakarta: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian 2016
- Kholifah. 2014. **Uji Aktivitas Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Edwardsiella tarda* Penyebab Penyakit *Edwardsiellosis* Pada Ikan**. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang
- Kuldiloke, J. 2002. **Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatments on Enzyme Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Juices**. Dissertationder Technischen. Universitat Berlin. Berlin
- Kurniawan, A., Kurniawan, C., Indraswati, N., Mudjiati. 2008. **Ekstraksi Minyak Kulit Jeruk Dengan Metode Distilasi, Pengepresan dan *Leaching***. *Widya Teknik*. 7(1): 15-24
- Kusumadewi, S. 2005. **Pencarian Bobot Atribut Pada *Multiple Attribute Decision Making* (MADM) Dengan Pendekatan Obyektif Menggunakan Algoritma Genetika (Studi Kasus: Rekrutmen Dosen**

- Jurusan T. Informatika UII). *Gematika Jurnal Manajemen Informatika*. 7(1): 48-56
- Lagha-Benamrouche, S., and Madani, K. 2013. **Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Orange Varieties (*Citrus sinensis* L. And *Citrus aurantium* L.) Cultivated in Algeria: Peels and Leaves.** *Industrial Crops and Products*. 50: 723-730
- Lagourli, V., Bantouna, A., Stathopoulos, P. 2010. **A Comparison of The Antioxidant Activity and Phenolic Content of Nonpolar and Polar Extracts Obtained from Four Endemic *Lamiaceae* Species Grown in Greece.** *Journal of Food Processing and Preservation*. 34: 872-886
- Lei, Z., Wang, H., Zhou, R., Duan, Z. 2002. **Influence of Salt Added to Solvent on Extractive Distillation.** *Chemical Engineering Journal*. 87(2): 149-156
- Li, BB., Smith, B., Hossain, M. 2006. **Extraction of Phenolics from Citrus Peels: I. Solvent Extraction Method.** *Separation and Purification Technology*. 48(2): 182-188
- Li, H., Pordesimo, L., Weiss, J. 2004. **High Intensity Ultrasound-assisted Extraction of Oil From Soybeans.** *Food Research International*. 37: 731-738
- Li, W., Dai, RJ., Yu, YH., Li, L., Wu, CM., Luan, WW., Meng, WW., Zhang, XS., Deng, YL. 2007. **Antihyperglycemic Effect of *Cephalotaxus sinensis* Leaves and GLUT4 Translocation Facilitating Activity of its Flavonoid Constituents.** *Biol. Pharm. Bull.* 30(6): 1123-1129
- Li, W., Wang, Z., Wang, YP., Qun-Liu, CJ., Sun, YS., Zheng, YN. 2012. **Pressurised Liquid Extraction Combining LC-DAD-ESI/MS Analysis as An Alternative Method to Extract Three Major Flavones in *Citrus reticulata* 'Chachi' (Guangchenpi).** *Food Chemistry*. 1044-1049
- Li, X., Wu, X., Huang, L. 2009. **Correlation between Antioxidant Activities and Phenolic Contents of *Radix Angelicae Sinensis* (Danggui).** *Molecules*. 14: 5349-5361
- Liu, L., Fishman, ML., Kost, J., Hicks, KB. 2003. **Pectin-based Systems for Colon-specific Drug Delivery Via Oral Route.** *Biomaterials*. 24: 333-3343
- Liu, QM. 2010. **Optimization of Ultrasonic-assisted Extraction of Chlorogenic Acid From *Folium eucommiae* and Evaluation of its**

- Antioxidant Activity.** *Journal of Medicinal Plants Research.* 4(23): 2503-2511
- Liu, Y., Heying, E., Tanumihardjo, SA. 2012. **History, Global Distribution, and Nutritional Importance of Citrus Fruits.** *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 11: 530-545
- M'hiri, N., Ioanou, I., Ghoul, M., Boudhrioua, NM. 2014. **Extraction Methods of Citrus Peel Phenolic Compounds: A Review.** *Food Review International.* 30: 265-290
- M'hiri, N., Ioanou, I., Ghoul, M., Boudhrioua, NM. 2015. **Proximate Chemical Composition of Orange Peel and Variation of Phenols and Antioxidant Activity During Convective Air Drying.** *Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology.* 9: 881-890
- M'hiri, N., Ioanou, I., Ghoul, M., Boudhrioua, NM. 2016. **Phytochemical Characteristics of Citrus Peel and Effect of Conventional and Nonconventional Procssing on Phenolic Compounds: A Review.** *Food Reviews International.* 1-90
- M'hiri, N., Ioanou, I., Ghoul, M., Boudhrioua, NM., Cédric, P. 2017. **Antioxidants of Maltease Orange Peel: Comparative Investigation of The Efficiency of Four Extraction Methods.** *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 7(11): 126-135
- Ma, YQ., Chen, JC., Liu, DH., Ye, XQ. 2008. **Effect of Ultrasonic Treatment on The Total Phenolic and Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peel.** *Journal of Food Science.* 79(8): 115-120
- Ma, YQ., Chen, JC., Liu, DH., Ye, XQ. 2009. **Simultaneous Extraction of Phenolic Compounds of Citrus Peel Extracts: Effect of Ultrasound.** *Ultrasonics Sonochemistry.* 16: 57-62
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Ramesy, C., Jimenez, L. 2004. **Polyphenos: Food Sources and Bioavailability.** *Journal Clinical Nutrition.* 79(5): 727-747
- Mansyur, M., Rahayu, A., Rianti, EDD. 2010. **Optimasi Frekuensi Paparan Gelombang Ultrasonik Untuk Membunuh Bakteri *E. coli*.** Fakultas Kedokteran. Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Surabaya
- Mardaningsih, F., Andriani, MAM., dan Kawiji. 2012. **Pengaruh Konsentrasi Etanol dan Suhu *Spray Dryer* Terhadap Karakteristik Bubuk Klorofil**

- Daun Alfalfa (*Medicago sativa* L.) dengan Menggunakan Binder Maltodekstrin.** *Jurnal Teknosains Pangan*. 1(1): 110-117
- Martha, H. 2001. **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid yang Meredam Radikal Bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hidrazyl) Dari Ekstrak Kulit Buah Jeruk Manis (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) Varietas Pacitan.** Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Surabaya. Surabaya
- Martinez, JLC. 2009. **Ultrasound in Chemistry: Analytical Applications.** Weimheim: Wiley-VCH
- Mason, TJ. 1990. **Introduction, Chemistry With Ultrasound.** London:Elsevier Applied Science
- Milind, P and Dev, C. 2012. **Orange of Benefits.** *International Research Journal Pharmacy*. 3(7): 59-64
- Molyneux, P. 2004. **The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity.** *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 26(2): 211-219
- Mukhriani. 2014. **Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif.** *Jurnal Kesehatan*. 8(2): 361-367
- Nair, CI., Shashidhar, S., Jayachandran, K. 2008. **Biodegradation of Phenol.** *African Journal of Biotechnology*. 7
- Nasution, PS. 2010. **Karakterisasi Simplisia, Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas dari Ekstrak Umbi Keladi Tikus (*Tuber typhonii*) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST).** Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Nguyen, MT., Kryachko, ES., Vanquickenborne, LG. 2003. **The Chemistry of Phenols: General and Theoretical Aspects of Phenols.** Chichester: Wiley Interscience Publication
- Nugroho, B., Malau, DP., Rokhmanto, F., Laili, N. 2008. **Pengaruh Suhu Ekstraksi Terhadap Kandungan Kurkuminoid dan Air Serbuk Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*).** Metode Penelitian Percobaan, Diklat Metode Penelitian Dan Pengolahan Data Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia 2008
- Oikeh, EI., Oriakhi, K., Omoregie, ES. 2013. **Proximate Analysis and Phytochemical Screening of *Citrus sinensis* Fruit Wastes.** *The Bioscientist*. 1(2): 164-170

- Omoba, OS., Obafaye, RO., Salawu, SO., Boligon, AA., Athayde, ML. 2015. **HPLC-DAD Phenolic Characterization and Antioxidant Activities of Ripe and Unripe Sweet Orange Peels.** *Antioxidants Article*. 4: 498-512
- Osman, H., Rahim, AA., Isa, NM., Bakhir, NM. 2009. **Antioxidant Activity and Phenolic Content of *Paederia foetida* and *Syzygium aqueum*.** *Molecules*. 14: 970-978
- Pambayun, R., Gardjito, M., Sudarmadji, S., Kuswanto, KR. 2007. **Kandungan Fenol dan Sifat Antibakteri Dari Berbagai Jenis Ekstrak Produk Gambir (*Uncaria gambir* Roxb).** *Majalah Farmasi Indonesia*. 18(3): 141-146
- Paniwnyk, L., Cai, H., Albu, S., Mason, T., Cole, R. 2009 **The Enhancement and Scale Up of The Extraction of Antioxidants from *Rosmarinus officinalis* Using Ultrasound.** *Ultrasonics Sonochemistry*. 16: 287-292
- Permata, DG. 2015. **Degradasi Fotokatalitik Fenol Menggunakan Fotokatalis ZnO dan Sinar UV.** *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Udayana. Bali
- Pinela, J., Lillia, B., Ana, MC., Isabel, CFR. 2012. **Nutritional Composition and Antioxidant Activity of Four Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Farmer' Varieties in Northeastern Portugal Homegardens.** *Food and Chemical Toxicology*. 50: 829-834
- Piriyaprasarth, S., and Sriamornsak, P. 2011. **Flocculating and Suspending Properties of Commercial Citrus Pectin and Pectin Extracted from Pomelo (*Citrus maxima*) Peel.** *Carbohydrate Polymerization*. 83(2): 561-568
- Pradipta, A. 2011. **Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Sansevieria trifasciata* Prain Terhadap *Staphylococcus aureus* IFO 13276 dan *Pseudomonas aeruginosa* IFO 12689.** *Skripsi*. Fakultas Teknobiologi. Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Yogyakarta
- Prior, RL., and Cao, G. 2000. **Antioxidant Phytochemicals in Fruits and Vegetables: Diet and Health Implications.** *Horticulture Sciences*. 35(4): 588-592
- Procházková, D., Bousová, I., Wilhelmová, N. 2011. **Antioxidant and Prooxidant Properties of Flavonoids.** *Fitoterapia*. 82(4): 513-523

- Raajeswari, PA., and Nischala. 2017. **Dehydration, Nutrient Analysis, Phytochemical Analysis and Shelf Life Assay of Citrus Fruit Peel.** *Nutrition & Food Science International Journal*. 4(2): 1-4
- Rahayu, ID dan Hastuti, SD. 2009. **Stabilitas Saponin sebagai Antibiotik Alami Hasil Isolasi Gel Daun *Aloe barbandis miller* pada Variasi Suhu dan Lama Simpan.** *Jurnal*. 60-68
- Rahmawati, A. 2013. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Menggunakan Metode Ekstraksi Ultrasonik Pada Bakteri Uji *Escherchia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Kajian Perbandingan Lama Waktu Blansing dan Ekstraksi).** *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Ramadhan, AE., dan Phaza, HA. 2010. **Pengaruh Konsentrasi Etanol, Suhu dan Jumlah Stage Pada Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale Rosc*) Secara Batch.** *Skripsi*. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang
- Rao, K., Aradhana, R., Banjii, D., Chaitanya, R., Kumar, AA. 2011. **In-Vitro Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of Various Extracts of *Tectona grandis*, Linn Leaves.** *Journal of Pharmacy Research*. 2(4): 440-442
- Rasfanjani, MK. 2014. **Karakterisasi Ekstrak Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Dengan Menggunakan Metode *Ultrasonic Bath* (Kajian Perbedaan Pelarut dan Lama Ekstraksi).** *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Rathod, RP., and Annapure, US. 2016. **Antioxidant Activity and Polyphenolic Compound Stability of Lentil-orange Peel Powder Blend in An Extrusion Process.** *Journal Food Science Technology*. Springer
- Ridho, EA. 2013. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil).** *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Tanjungpura. Pontianak
- Safdar, MN., Kausar, T., Jabbar, S., Mumtaz, A., Ahad, K., Saddozai, AA. 2016. **Extraction and Quantification of Polyphenols From Kinnow (*Citrus reticulate* L.) Peel Using Ultrasound and Maceration Techniques.** *Journal of Food and Drug Analysis*. 25: 488-500
- Saifudin, A. 2014. **Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep dan Teknik Pemurnian.** Yogyakarta: Deepublish

- Sankalpa, KB., Ramachandra, CT., Dinesha, BL., Nidoni, UK., Hiregoudar, S., Beladhadi, RV. 2017. **Effect of Different Drying and Grinding Methods on Biochemical Properties of Sweet Orange Peel Powder.** *Asian Journal Dairy & Food Research.* 36(3): 260-263
- Sawalha, SMS., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez. 2009. **Quantification of Main Phenolic Compounds in Sweet and Bitter Orange Peel Using CE-MS/MS.** *Food Chemistry.* 116: 567-574
- Sayuti, K., dan Yenrina, R. 2015. **Antioksidan Alami dan Sintetik.** Padang: Andalas University Press
- Schofield, P., Mbugua, DM., Pell, AN. 2001. **Analysis of Condensed Tannins: A Review.** *Animal Feed Science Technology.* 91: 21-40
- Seidel, V. 2006. **Initial and Bulk Extraction.** New Jersey: Humana Press Inc
- Sharma, GN. 2011. **Phytochemical Screening and Estimation of Total Phenolic Content in *Aegle marmelos* Seeds.** *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 2(3): 27-29
- Siburian, R. 2008. **Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Minyak Atsiri Dari Kulit Buah Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) Asal Timor Nusa Tenggara Timur.** *Natur Indonesia.* 11(1): 8-13
- Silva, EM., Souza, JNS., Rogez, H., Rees, JF., Larondelle, Y. 2007. **Antioxidant Activities and Polyphenolic Contents of Fifteen Selected Plant Species from The Amazonian Region.** *Food Chemistry.* 101: 1012-1018
- Simanjuntak, RD. 2015. **Uji Daya Terima Selai Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) dan Nilai Gizinya.** *Skripsi.* Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Singh, S and Immanuel, G. 2014. **Extraction of Antioxidants from Fruit Peels and its Utilization in Paneer.** *Journal Food Processing & Technology.* 5(7): 1-5
- Subandono. 2006. **Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Dari Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* [L.] Skeels.).** *Skripsi.* Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta
- Sun, C., Wu, Z., Wang, Z., Zhang, H. 2015. **Effect of Ethanol/Water Solvents on Phenolic Profiles and Antioxidant Properties of Beijing Propolis Extracts.** *Research Article: Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 1-9

- Suryani, NC., Permana, DGM., Jambe, AAGNA. 2016. **Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata*)**. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 5(1): 1-10
- Suryaningtyas, NWY. 2014. **Kemampuan Pektin Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) Sebagai Biosorben Logam Berat Krom (VI)**. *Skripsi*. Fakultas Teknobiologi. Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Yogyakarta
- Suyuti, AJ. 2016. **Pembuatan Produk Sirup Jeruk *Baby Java* (*Citrus Sinensis* L. *Osbeck*) Subgrade Pada Skala Pilot Plan**. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Tokosgulu, O and Hall, C. 2011. **Fruit and Cereal Bioactives: Sources, Chemistry and Applications**. New York: CRC Press Taylor & Francis
- Tamat, SR., Wikanta, T., Maulina, LS. 2007. **Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif Dari Ekstrak Rumpun Laut Hijau *Ulva reticulata* Forsskal**. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 5: 31-36
- Tan, M., Tan, C., Ho, C. 2013. **Effects of Extraction Solvent System, Time and Temperature on Total Phenolic Content of Henna (*Lawsonia inermis*) Stems**. *International Food Research Journal*. 20(6): 3117-3123
- Toledo, RT. 2007. **Fundamentals of Food Process Engineering Third Edition**. Athens: Springer
- Veggi, PC., Santos, DT., Fabiano-Tixier, AS., Le-Bourvellec, C., Meireles, MAA., Chemat, F. 2013. **Ultrasound-assisted Extraction of Polyphenols from Jatoba (*Hymenaea courbaril* L. Var *stilbocarpa*) Bark**. *Food Public Health*. 3: 119-129
- Wahyuni, DT. 2015. **Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Ekstrak Karotenoid Labu Kuning dengan Metode Gelombang Ultrasonik**. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Waszkowiak, K., and Gliszczynska-Świgło, A. 2016. **Binary Ethanol-water Solvents Affect Phenolic Profile and Antioxidant Capacity of Flaxseed Extracts**. *Europe Food Research Technology*. 242: 777-786
- Wijaya, J. 2018. **Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Metode Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Proteksi dari Sinar UV Ekstrak Senyawa Bioaktif Kulit Pisang (*Musa paradisiaca*) Candi**. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang

- Winata, EW. 2014. **Ekstraksi Antosianin Dari Buah Murbei (*Morus alba L.*) Metode Ultrasonic Bath (Kajian Lama Waktu dan Rasio Bahan:Pelarut).** Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Winarsi, H. 2007. **Antioksidan Alami dan Radikal Bebas.** Yogyakarta: Kanisius
- Winarti, S. 2010. **Makanan Fungsional.** Yogyakarta: Graha Ilmu
- Wirza, E. 2008. **Rekonstruksi Sinyal Akustik A-Mode Menjadi B-Mode Sebagai Dasar Sistem Pencitraan Ultrasonik.** Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia. Depok
- Wissam, Z., Ghada, B., Wassim, A., Warid, K. 2012. **Effective Extraction of Polyphenols and Proanthocyanidins from Pomegranate's Peel.** *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science.* 4(3): 675-682
- Wojdylo, A., Oszmiański, J., Czemerys, R. 2007. **Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in 32 Selected Herbs.** *Food Chemistry.* 105: 940-949
- Worstald, RE., Acree, TE., Decker, EA., Penner, MH., Reid, DS., Schwartz, SJ., Shoemaker, CF., Smith, DM., Sporns, P. 2005. **Handbook of Food Analytical Chemistry Vol 2.** Chichester: Wiley Interscience Publication
- Zefang, L., Zao, Z., Hongmei, W., Zhiqin, Z., Jie, Y. 2016. **Phenolic Composition and Antioxidant Capacities of Chinese Local Pummelo Cultivars' Peel.** *Horticultural Plant Journal.* 2(3): 133-140
- Zeleny, M. 1982. **Multiple Criteria Decision Making.** New York: McGraw-Hill Co
- Zhang, ZS., Wang, LJ., Li, D., Jiao, SS., Chen, XD., Mao, ZH. 2008. **Ultrasound-assisted Extraction of Oil from Flaxseed.** *Separation Purification Technology.* 62(1): 192-198
- Zia-ur-Rehman. 2006. **Citrus Peel Extract – A Natural Source of Antioxidant.** *Food Chemistry.* 99(3): 450-454